

# **UTILIZAÇÃO DA MODULAÇÃO DO FOTOPERÍODO E DA SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA SOBRE O EFEITO MACHO NA INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM CAPRINOS**

**André Filipe Rodrigues Raposo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Zootécnica – Produção Animal**

Orientador: Doutor Ramiro Doutel de Mascarenhas

Co-orientador: Doutor João Pedro de Sousa Santa-Clara Barbas

**Júri:**

**Presidente:** Doutor Rui Manuel Vasconcelos Horta Caldeira, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

**Vogais:** Doutor Ramiro Doutel de Mascarenhas, Investigador Principal do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.;

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Fernando Baltazar Santos Ortega, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor João Pedro de Sousa Santa-Clara Barbas, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.

Lisboa, 2011

# UTILIZAÇÃO DA MODULAÇÃO DO FOTOPERÍODO E DA SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA SOBRE O EFEITO MACHO NA INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM CAPRINOS

**André Filipe Rodrigues Raposo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Zootécnica – Produção Animal**

Orientador: Doutor Ramiro Doutel de Mascarenhas

Co-orientador: Doutor João Pedro de Sousa Santa-Clara Barbas

**Júri:**

**Presidente:** Doutor Rui Manuel Vasconcelos Horta Caldeira, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

**Vogais:** Doutor Ramiro Doutel de Mascarenhas, Investigador Principal do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.;

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Fernando Baltazar Santos Ortega, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor João Pedro de Sousa Santa-Clara Barbas, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.

Lisboa, 2011

## Resumo

O objectivo deste trabalho foi determinar a resposta ao efeito macho de cabras da raça Serrana durante o anestro sazonal e estabelecer a relação entre esta e a utilização de tratamentos fotoperiódicos e de suplementos nutricionais sobre a eficiência reprodutiva. Para tal, 80 cabras adultas foram divididas em 2 grupos ( $n=40$ ) a fim de um dos grupos ser sujeito a um tratamento luminoso artificial (grupo T; 16L:8D) com a duração de 70 dias e o outro ser submetido ao fotoperíodo natural (grupo C). Após o tratamento, os grupos foram subdivididos em 2 subgrupos ( $n=40$ ), um suplementado (S) e outro não suplementado (NS), 7 dias antes e depois da introdução dos machos.

O tratamento luminoso artificial não influenciou ( $p>0,05$ ) a resposta do efeito macho em nenhum dos parâmetros reprodutivos estudados. Por outro lado, a suplementação influenciou significativamente ( $p<0,05$ ) o intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro das cabras e as taxas de fertilidade e de prolificidade. Estes resultados sugerem que a eficácia da resposta do efeito macho não depende da implementação prévia de um período trimestral de tratamento luminoso artificial e que poderão haver efeitos positivos na eficiência reprodutiva com o aumento do período de suplementação, principalmente após a introdução dos machos.

**Palavras-Chave:** cabra, fotoperíodo, efeito macho, suplementação nutricional, sazonalidade, eficiência reprodutiva.

## Abstract

The aim of the present study was to determine the response to the male effect throughout seasonal anoestrus in Serrana breed and to establish the relation between the male effect, artificial photoperiod with long days and nutritional supplementation on reproductive efficiency. Therefore, 80 adult goats were assigned to 2 groups (n=40), the first one was exposed to artificial long days (16L:8D) and the second one was placed under natural photoperiod during 70 days. After this treatment and for 14 days, the groups were subdivided in 2 subgroups (n=40) in order to one of them receive nutritional supplementation 7 days before and after buck introduction on the flock.

The artificial light treatment did not have influence ( $p>0,05$ ) on the male effect response in any of the reproductive parameters and reproductive efficiency. On the other hand, nutritional supplementation only affected ( $p<0,05$ ) the interval between the day of male introduction and the onset of estrous behaviour, fertility rate and prolificacy rate. These results suggest that the effectiveness of the male effect response did not depend on a previous 3 month artificial long days treatment and suggest that nutritional supplementation may affect male effect response after extending length of supplementation, particularly after male introduction.

**Keywords:** goat, photoperiod, male effect, nutritional supplementation, seasonality, reproductive efficiency.

## Extended Abstract

Portugal, like some European countries, has several goat production systems addressed for both milk and meat production and, in some regions, is considered one of the most profit economic activities, mainly on poorer areas where animal production is economically and technically more difficult to carry out. Goats' adaptability to harsh environment (better resistance to heat stress and drought, better utilization and digestibility of pastures) allows local populations to improve animal production in a variety of climatic conditions ranging from extremes of tropical rain forest to dry deserts (Delgadillo et al., 1997).

Goats show a seasonal pattern in reproductive activity related to the annual variations of photoperiod, increasing the sexual activity with decrease daylight days. Goats have a polyestrous and seasonal reproductive activity because their reproductive cycle is characterized by a period of sexual activity and an anoestrus period (Simões and Mascarenhas, 2004). Onset and length of their breeding period throughout the year is dependent on different environmental and physiological factors such as latitude, climate, food availability, breed and breeding system (Fatet *et al.*, 2010). The fact that their sexual activity is seasonal affects the distribution of their production over the year and this is a problem both in dairy and meat production systems which attempt to have a constant production year-round. Therefore, goat reproduction is a key factor of business, technical and economic management that dictate farms competitive capacity. Reproduction management allows, among other things, decrease unproductive females rate and select kidding season, which affects production and commercialization, reducing supply's fluctuations and increasing consumer satisfaction. For that, farmer has to induce and synchronize ovarian and oestrus activity during the breeding season and the non-breeding season. Current protocols include hormone use, which is not welcome by new law and social restraints that affect animal industries. These restraints suggest farmers to avoid or minimize the use of hormonal treatments and choose instead natural treatments such as photoperiod manipulation, male effect and feed management.

With that in mind, we studied the response to the male effect throughout seasonal anoestrus in Serrana breed and the relation among male effect, artificial photoperiod and nutritional supplementation. Therefore, 80 adult goats were assigned to 2 groups (n=40), the first one was exposed to artificial long days and the second one was placed under natural photoperiod during 70 days. After this treatment and for 14 days, the groups were

subdivided in 2 subgroups (n=40) in order to one of them receive nutritional supplementation 7 days before and after bucks introduction.

Seven/eight days after males were introduced, 75% of does of all groups ( $p>0,05$ ) showed oestrus behaviour. During 14 days after males introduction no differences were detected ( $p>0,05$ ) between groups C and T (81,1% vs. 86,8%) and between groups NS and S (86,8% vs. 81,1%). Comparing the number of goats marked only once, either from D0 to D5 or from D6 to D14, there were no differences ( $p>0,05$ ) between groups C and T and between groups NS and S. Also the number of goats marked twice during the two periods considered (D0-D5 and D6-D14) was not different ( $p>0,05$ ) between groups C and T and between groups NS and S.

The interval between males introduction and the onset of oestrous behaviour was equal ( $p>0,05$ ) among groups C and T ( $6,1\pm3,1$  days vs.  $6,1\pm3,1$  days). This interval was shorter ( $p<0,05$ ) for group S ( $5,7\pm3,0$  days) than for group NS ( $6,5\pm3,1$  days). The proportions of does displaying shorter than typical length oestrous cycles was not different ( $p>0,05$ ) between groups C and T (21,1% vs. 16,2%) and between groups NS and S (18,9% vs. 18,4%). The duration of short oestrous cycles did not differ ( $p>0,05$ ) between groups C and T ( $4,3\pm1,0$  days vs.  $5,5\pm2,7$  days). However, the duration of short oestrous cycles was greater ( $p<0,05$ ) for group NS ( $5,9\pm2,0$  days) than for group S ( $3,7\pm1,3$  days).

The proportion of pregnant does did not differ ( $p>0,05$ ) between groups C and T (67,6% vs. 73,7%) and between groups NS and S (68,4% vs. 73,0%). Fertility rate was similar ( $p>0,05$ ) among groups C and T (37,8% vs. 52,6%) but was greater ( $p<0,05$ ) for group NS (56,8%) than for group S (34,2%). Prolificacy rate was greater ( $p<0,05$ ) for group NS (176,9%) than for group S (123,8%) but did not differ ( $p>0,05$ ) between groups C and T (175,0% vs. 157,1%).

The lack of differences between groups leads us to conclude that Serrana goats does not need a previous 3 month artificial long days treatment to improve effectiveness of male effect response. This might be due to Serrana breed's seasonal anoestrus does not justify use of artificial photoperiod treatment. The shortage of differences might be as well due to length of nutritional supplementation is not enough to impact positively the reproductive parameters.

**Keywords:** goat, photoperiod, male effect, nutritional supplementation, oestrus, seasonality.

## **Agradecimentos**

Ao Doutor Ramiro Mascarenhas, meu orientador, por ter aceite a minha participação no projecto em que estava envolvido e por todo o apoio, paciência e dedicação demonstrados durante a elaboração deste trabalho.

Ao Doutor Pedro Barbas, meu co-orientador, por todo o apoio, amizade, paciência e disponibilidade demonstrados ao longo da elaboração do trabalho

À Doutora Sandra Cavaco Gonçalves pelo apoio e disponibilidade demonstrados.

Ao Francisco Pereira, Fernando Pintor e Ricardo da ANCRAS pela hospitalidade, apoio e disponibilidade demonstrados no decorrer do trabalho em Mirandela.

À EPADR pela cedência dos espaços que permitiram a realização do ensaio e pela cedência de alojamento.

Aos meus pais e irmã por me terem possibilitado esta oportunidade, pelo apoio, carinho e muita paciência durante todo o percurso académico e em especial durante a elaboração e realização da tese.

Aos meus tios, madrinhas, padrinho e primos por todo o apoio e carinho durante todo o caminho universitário.

Aos meus grandes amigos de S. Miguel e do ISA por tudo e mais alguma coisa durante estes magníficos 5 anos.

A todos, o meu mais sincero Obrigado!

# Índice Geral

I. Introdução e Objectivos.....	1
II. Revisão bibliográfica .....	3
1. Ciclo éstrico .....	3
1.1. Duração do ciclo éstrico .....	4
1.2. Fase folicular e fase lútea.....	4
1.3. Sazonalidade do ciclo éstrico .....	5
1.4. Regulação endócrina da sazonalidade .....	6
1.5. Comportamento durante o estro.....	8
2. Dinâmica folicular durante o estro.....	9
2.1. Padrões de crescimento por ondas de crescimento folicular .....	9
2.2. Mecanismos de regulação endócrinos, neuroendócrinos e intra-ovários .....	11
2.2.1. Eixo gónado-hipotálamo-hipofisário.....	12
3. Métodos de controlo do ciclo éstrico .....	16
3.1. Modulação do fotoperíodo .....	16
3.2. Efeito macho .....	17
3.3. Suplementação nutricional .....	18
3.4. Métodos farmacológicos/hormonais .....	20
III. Materiais e Métodos .....	23
1. Animais.....	23
2. Indução e sincronização do estro.....	24
2.1. Modulação do fotoperíodo .....	25
2.2. Suplementação lipídica .....	25



2.3. Efeito macho .....	26
2.4. Condição corporal .....	26
3. Análises .....	26
3.1. Análise da actividade ovária .....	26
3.2. Pico pré-ovulatório de LH .....	27
3.3. Detecção do estro .....	27
3.4. Diagnóstico de gestação .....	27
3.5. Análise estatística .....	27
IV. Resultados.....	28
1. Condição corporal.....	28
2. Efeito macho e comportamento sexual .....	30
3. Caracterização da resposta ovulatória.....	34
4. Parâmetros reprodutivos: Gestação, Fertilidade e Prolificidade .....	34
V. Discussão.....	36
VI. Conclusão.....	44
VII. Referências bibliográficas .....	43

## Índice de Quadros

<b>Quadro 1</b> – Composição analítica do alimento concentrado para cabras em lactação .....	24
<b>Quadro 2</b> – Composição analítica do suplemento lipídico para cabras em lactação.....	25
<b>Quadro 3</b> – Número de animais que constituem cada grupo .....	28
<b>Quadro 4</b> – Evolução da condição corporal das cabras dos grupos C e T e dos grupos C.NS, C.S, T.NS e T.S entre o início e o fim do ensaio.....	29
<b>Quadro 5</b> – Proporção de cabras gestantes dos grupos C.NS, C.S, T.NS e T.S em relação à sua condição corporal .....	29
<b>Quadro 6</b> – Proporção de cabras marcadas uma vez entre D0-D5, cabras marcadas entre D6-D14 e cabras marcadas uma vez em cada um dos períodos (D0-D5 e D6-D14).....	33
<b>Quadro 7</b> – Número de fêmeas a exibir ciclos curtos, duração dos ciclos curtos (dias) e intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro das cabras (dias).....	33
<b>Quadro 8</b> – Proporção de cabras gestantes que foram marcadas uma vez entre D0-D5, marcadas uma vez entre D6-D14 e marcadas uma vez em cada um dos períodos (D0-D5 e D6-D14). Proporção de cabras gestantes que não foram marcadas .....	35
<b>Quadro 9</b> – Taxa de fertilidade e taxa de prolificidade das cabras dos diferentes grupos..	35

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> – Representação esquemática das alterações fisiológicas que ocorrem durante o ciclo éstrico da cabra: padrão de desenvolvimento folicular e o ciclo ovário.....	5
<b>Figura 2</b> – Modelo neuroendócrino representativo da actividade sazonal dos caprinos.....	7
<b>Figura 3</b> – Principais eventos ocorridos durante a onda folicular .....	11
<b>Figura 4</b> – Representação esquemática das alterações fisiológicas que ocorrem durante o ciclo éstrico da cabra: padrão da regulação endócrina.....	12
<b>Figura 5</b> – Representação esquemática do eixo gónado-hipotalâmico-hipofisário.....	13
<b>Figura 6</b> – Esquema representativo da actividades realizadas durante o ensaio .....	23
<b>Figura 7</b> – Percentagem diária e cumulativa das cabras que apresentaram comportamento característico do estro dos grupos NS e S .....	30
<b>Figura 8</b> – Percentagem diária e cumulativa das cabras que apresentaram comportamento característico do estro dos grupos C e T .....	31

## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

16L:8D – 16 horas de luz:8 horas de escuro

ANCRAS – Associação Nacional de Caprinicultores da Raça Serrana

CL – corpo lúteo

eCG – gonadotrofina coriônica equina

ELISA - Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay

EPADR – Escola Profissional de Agricultura e Desenvolvimento Rural de Carvalhais/Mirandela

FGA – acetato de fluorogestona

FLOCK-REPROD – projecto europeu “Hormone-free non-seasonal or seasonal goat reproduction for a sustainable European goat-milk market”

FSH – hormona folículo-estimulante

g – grama

GnRH – hormona libertadora de gonadotropina

IA – inseminação artificial

IGF – factor de crescimento semelhante à insulina (insuline-like growth factor)

INRB, I.P./INIA – Instituto Nacional de Recursos Biológicos/Instituto Nacional de Investigação Agrária

LH – hormona luteinizante

lux – é a unidade de iluminação. Corresponde à incidência perpendicular de 1 lúmen numa superfície de 1 metro quadrado.

MAP – medroxiprogesterona

mg – miligrama

mL – mililitro

mm – milímetro

MS – matéria seca

ng – nanograma

pg – picograma

PGF<sub>2α</sub> – prostaglandina F<sub>2α</sub>

RIA – radioimunoensaio

UI – unidades internacionais

URGRMA – Unidade de Recursos Genéticos, Reprodução e Melhoramento Animal

µg – micrograma

## I. Introdução e Objectivos

Em Portugal, assim como em alguns países da Europa, existem vários sistemas de exploração caprina vocacionados tanto para produção de leite como para produção de carne e, em determinadas regiões, é considerada uma das actividades economicamente mais rentáveis, principalmente em zonas menos favorecidas onde outra produção animal é, económica e tecnicamente, mais difícil.

A cabra é um animal rústico por ter elevada adaptabilidade a ambientes adversos, resistindo ao stress térmico e fazendo um bom aproveitamento dos recursos alimentares que compõem a sua dieta, variáveis com o sistema de produção em que é explorada. Fazem um bom aproveitamento dos recursos alimentares arbustivos além dos pratenses e forragens várias, exibindo bons índices reprodutivos. No entanto, o seu ciclo reprodutivo caracteriza-se por um período de actividade sexual e por um período de anestro, sendo, assim, considerada uma espécie com actividade reprodutiva poliéstrica sazonal de ovulação espontânea (Simões e Mascarenhas, 2004). Este padrão sazonal da actividade reprodutiva está dependente da variação anual do fotoperíodo, em que, a partir do solstício de Verão, nos dias com duração decrescente de luminosidade, as cabras apresentam ciclos éstricos contínuos e no solstício de Inverno cessam esta actividade. O início e a duração do período de reprodução ao longo do ano depende dos diferentes ambientes e dos factores fisiológicos, tais como, a latitude, o clima, a disponibilidade alimentar, a raça e o sistema de produção (Fatet *et al.*, 2010).

O facto de ser uma espécie com reprodução sazonal faz com que a sua produção, quer seja leite ou carne, seja também sazonal, não correspondendo às expectativas do mercado e dos consumidores. Por esta razão, a reprodução dos caprinos é um dos factores chave de gestão empresarial, técnica e económica que dita a capacidade concorrencial das explorações (Simões e Mascarenhas, 2004). O controlo da reprodução possibilita, entre outras coisas, a diminuição da percentagem de fêmeas improdutivas e a escolha da época de partos, com implicações nos factores de produção e de comercialização dos produtos, permitindo reduzir as flutuações da oferta e aumentar a satisfação dos consumidores.

Com estas premissas em mente, foram desenvolvidas várias técnicas para proceder ao controlo da reprodução, induzindo estros férteis e sincronizados fora do período reprodutivo. Actualmente, a técnica mais usada é o tratamento hormonal nas fêmeas, que envolve a introdução de uma esponja vaginal impregnada com progestagénios, normalmente FGA (acetato de fluorogestona), durante 11 dias. Quarenta e oito horas antes da remoção da esponja, são administradas eCG (gonadotrofina coriónica equina) e cloprostenol, um análogo sintético da prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), por via injectável (Pellicer-

Rubio *et al.*, 2007). A ovulação ocorre sincronizadamente após algumas horas. Esta técnica é utilizada em explorações que utilizam a cobertura natural mas, no entanto, o principal objectivo é associá-la à inseminação artificial (IA), que é realizada entre as 42-45 horas após a remoção das esponjas vaginais.

Contudo, estudos revelam que a administração contínua de eCG para a indução da ovulação leva a que o organismo da cabra desenvolva anti-corpos eCG, o que reduz a eficácia do tratamento e diminui a fertilidade após a IA (Roy *et al.*, 1999 in Pellicer-Rubio *et al.*, 2008). Além disso, a eCG é extraída do soro da égua e pode conter agentes patogénicos desconhecidos e que ainda não foram detectados (Pellicer-Rubio *et al.*, 2008). Associado a estas questões surge o facto da indústria animal estar fortemente influenciada pelas novas restrições sociais e legislativas. A legislação europeia, aliada às novas tendências sociais, opõe-se cada vez mais a tratamentos que envolvam hormonas e substâncias sintéticas e encoraja os produtores a adoptarem práticas que evitem ou, pelo menos, minimizem a utilização de tais tratamentos.

Existem estratégias que entram nos moldes em que a legislação europeia e os consumidores em geral desejam que os produtores trabalhem, tais como, o uso do fotoperíodo artificial e o efeito macho. O tratamento pelo fotoperíodo é baseado na alternância entre dias longos e dias curtos. A manipulação artificial do fotoperíodo induz mas não sincroniza o estro, sendo este tratamento normalmente associado ao efeito macho, que consiste na introdução dos machos num rebanho de fêmeas separadas dos machos há pelo menos dois a três meses. As futuras estratégias europeias propõem uma redução total ou parcial do uso de hormonas exógenas.

Assim, em caprinicultura, a melhoria e evolução das técnicas naturais e artificiais de reprodução assistida, assim como do conhecimento das alterações normais ou patológicas orientadas para a saúde reprodutiva dos rebanhos, dependem do conhecimento científico da fisiologia da reprodução nos caprinos (Simões e Mascarenhas, 2004).

Então, de forma a tornar a informação disponível mais completa, os objectivos deste estudo incluem a avaliação da eficácia de tratamentos luminosos associados ou não ao efeito macho, assim como a influência da suplementação lipídica nestes tratamentos a fim de verificar a possibilidade de estimular a reprodução em época de baixa actividade sexual sem recorrer ao uso de hormonas exógenas ou minimizar este uso.

## II. Revisão Bibliográfica

### 1. Ciclo éstrico

O ciclo éstrico engloba todas as alterações morfológicas e fisiológicas nos ovários e no tracto genital que levam à expressão do estro (fase de receptividade aos machos), à ovulação de um ou mais folículos com consequente libertação dos oócitos e à preparação do tracto genital para a cópula, fertilização e implantação embrionária (Fatet *et al.*, 2010).

O ciclo éstrico é controlado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos complexos, coordenados pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovário-útero e por mecanismos intra-ovários que estabelecem uma dinâmica folicular, a qual permite o desenvolvimento de um folículo maduro capaz de ovular em momento propício e produzir, assim, uma célula capaz de ser fecundada. Este ciclo, que se estabelece após a fêmea atingir a puberdade, é caracterizado, em última análise, pelo crescimento e regressão dos folículos assim como pela formação e regressão do corpo lúteo (CL) (Hafez e Hafez, 2000).

Ao longo da época de reprodução, e por se tratar de uma espécie poliéstrica, as fêmeas podem apresentar ciclos éstricos consecutivos, sendo que o número de ciclos depende da duração da época reprodutiva, da raça em questão e, também, da variabilidade individual (Fatet *et al.*, 2010).

Tradicionalmente, o ciclo éstrico, que geralmente se inicia no momento da ovulação, é definido por quatro períodos consecutivos:

1. O proestro, primeiro período do ciclo, ocorre imediatamente antes do estro e caracteriza-se, a nível ovário, pela transição entre o declínio da actividade secretora do CL do ciclo anterior (se existente) e o início da influência dominante dos folículos em crescimento, através da produção de estrogénios.
2. O estro, período que culmina com a ovulação de um ou mais folículos de Graaf. Neste período, devido à alta concentração de estrogénios, a fêmea torna-se receptiva ao macho, desenvolvendo comportamentos característicos e permitindo a monta.
3. O metaestro, que sucede imediatamente ao estro e durante o qual as células da granulosa do folículo sofrem luteinização dando origem à formação do CL, conduzindo a um aumento rápido da concentração de progesterona.
4. Finalmente, o diestro, caracterizado pela plenitude funcional do CL com a produção de quantidades significativas de progesterona, que têm um efeito significativo nos órgãos sexuais acessórios (Arthur *et al.*, 1996).



### **1.1. Duração do ciclo éstrico**

A duração do ciclo éstrico está dependente da espécie em questão e, dentro da mesma espécie, varia ligeiramente de fêmea para fêmea. No entanto, nas cabras, existe uma variabilidade significativa desta duração (Baril *et al.*, 1995 citado por Simões e Mascarenhas, 2004). O ciclo sexual dos caprinos tem uma duração de 20 a 21 dias (Hafez e Hafez, 2000), podendo existir ciclos mais curtos com uma duração de 4 a 15 dias. Estes ciclos anormais são frequentes durante a transição entre períodos de actividade sexual e períodos de repouso ou durante a puberdade (Mascarenhas, 1988).

Chemineau *et al.* (1991) determinaram, em cabras de raça Alpina, durante a época de reprodução uma distribuição de 77% de ciclos com duração normal de 17 a 25 dias, 14% com uma duração inferior a 17 dias (ciclos de curta duração) e 9% com uma duração superior a 25 dias (ciclos de longa duração). Por outro lado, Simões *et al.* (2005) chegaram à conclusão que, durante a época de reprodução, a cabra Serrana tem ciclos normais com uma duração entre 19 e 24 dias e que somente uma pequena percentagem tem ciclos de curta duração, com uma média de 7 dias.

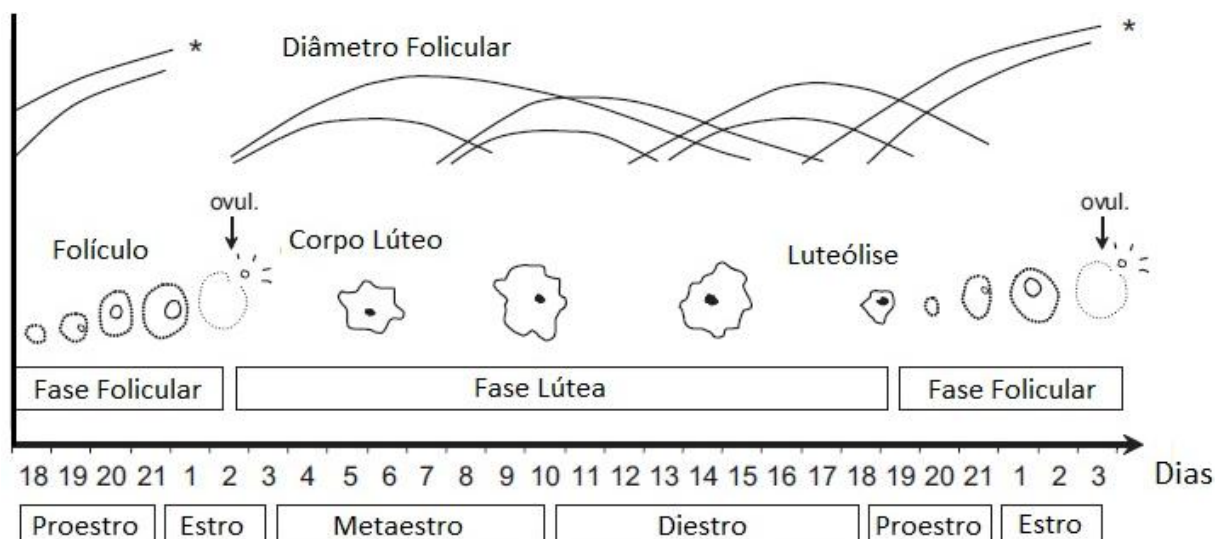
Como já foi referido anteriormente, o ciclo éstrico é definido por quatro períodos consecutivos: o proestro, o estro, o metaestro e o diestro. Estes períodos têm uma duração média de 4 dias, 36 horas (com uma variação entre 22 e 60 horas), 5 dias e 12 dias, respectivamente (figura 1; Schatten e Constantinescu, 2007; Solaiman, 2010).

### **1.2. Fase folicular e fase lútea**

Durante o ciclo éstrico, os ovários são submetidos a alterações morfológicas (recrutamento e crescimento folicular), bioquímicas (maturação folicular) e fisiológicas (regulação endócrina). Estas alterações cíclicas nas gónadas são denominadas ciclo ovário (Fatet *et al.*, 2010).

Normalmente, o ciclo ovário é dividido em duas fases: a fase folicular e a fase lútea. A fase folicular corresponde ao crescimento e maturação folicular e fase lútea diz respeito à duração do(s) CL funcional(ais) (figura 1).

A fase folicular compreende o período entre a regressão do CL funcional e a ovulação e tem uma duração de 2 a 3 dias. A ovulação, de um ou mais folículos, ocorre geralmente entre 30 a 36 horas após o início do estro. Após a ovulação, tem início a fase lútea que dura do dia 4 ao dia 19 do ciclo éstrico de 21 dias. O proestro e o estro ocorrem em simultâneo com a fase folicular e o metaestro e o diestro com a fase lútea (Simões e Mascarenhas, 2004).



**Fig. 1.** Representação esquemática das alterações fisiológicas que ocorrem durante o ciclo estral da cabra: padrão do desenvolvimento folicular e o ciclo ovário. \*Folículos ovulatórios  
Adaptado de Fatet *et al.* (2010)

A duração das fases de cada ciclo tem uma grande variabilidade entre raças e entre indivíduos (Simões e Mascarenhas, 2004; Fatet *et al.*, 2010).

### 1.3. Sazonalidade do ciclo estral

A reprodução em cabras é considerada sazonal, o que torna essencial o conhecimento das variações sazonais da actividade sexual para a escolha de estratégias e métodos a utilizar para melhorar a eficiência reprodutiva da espécie. O início e duração da época de reprodução dependem de vários factores, designadamente, latitude, clima, raça, estado fisiológico, condição corporal, presença do macho, sistema de produção e, principalmente, o fotoperíodo (Fatet *et al.*, 2010).

A espécie caprina exhibe uma actividade sexual dividida entre uma época de reprodução com ciclos estrais contínuos, a partir do solstício de Verão, e uma época de anestro estacional, que tem início variável a partir do solstício de Inverno e em que não se verifica o comportamento típico do estro, nem actividade sexual cíclica. Os dias longos de Verão estimulam um processo interno que desencadeia o reinício da estação reprodutiva. Após o início da estação reprodutiva, os dias de curta duração exercem um efeito estimulador que permite prolongar a actividade sexual até à sua paragem obrigatória após o solstício de Inverno (Simões e Mascarenhas, 2004). Entre as épocas de reprodução e de anestro é possível que existam períodos de transição, em que podem ocorrer estros anovulatórios ou estros silenciosos (ovulação que não é acompanhada por comportamentos típicos do estro).

Nas regiões de clima temperado do hemisfério norte, isto é, em latitudes médias (30° a 40°) ou elevadas (mais de 40°), o período de maior actividade reprodutiva situa-se entre os meses de Setembro e Janeiro. Simões *et al.* (2005), num estudo efectuado em cabras Serranas Transmontanas, observaram inactividade ovárica em 76,4% dos animais na primeira quinzena de Setembro, tendo todas elas entrado em ciclicidade na segunda quinzena de Setembro (Mascarenhas, 2006). Por outro lado, em zonas tropicais e subtropicais, o período de reprodução das cabras estende-se por todo o ano, sendo este condicionado, principalmente, por factores ambientais e alimentares.

A exposição aos machos pode fazer com que o período de actividade ovulatória seja maior, tanto antes como depois do período de ovulações espontâneas. Em cabras australianas, a exposição contínua ou intermitente aos machos, demonstrou que a actividade ovulatória se estendeu um mês, tanto antes como depois da época normal de reprodução (Restall, 1992).

Existe também um efeito genético (efeito da raça) na expressão da sazonalidade reprodutiva das cabras. Um estudo realizado em cabras de raça Alpina, tratadas durante três épocas reprodutivas (33 meses) pela manipulação artificial do fotoperíodo simulando o que ocorre com a luminosidade em zonas tropicais (11 a 13 horas de luz por dia), demonstrou que estas não sofreram alterações de sazonalidade (Chemineau *et al.*, 1992 citado por Simões e Mascarenhas, 2004).

#### **1.4. Regulação endócrina da sazonalidade**

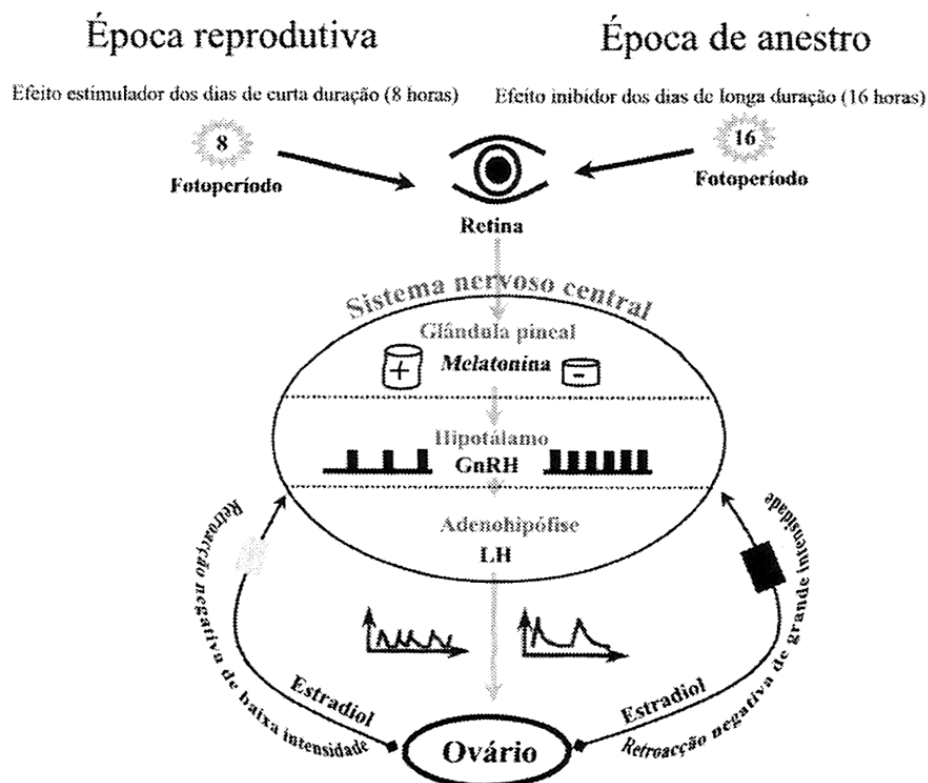
A fim de detectarem a variação da duração dos períodos de luz diários, os ruminantes domésticos com actividade reprodutiva sazonal, nomeadamente os caprinos, utilizam a melatonina como mensageiro químico, pois esta indoleamina é considerada o tradutor da escuridão (Chemineau e Malpoux, 1998).

A melatonina é segregada pela glândula pineal a partir do triptofano e da serotonina, sendo que a informação luminosa é recebida pela retina e é processada pelo núcleo supraquiasmático, chegando à glândula pineal por via nervosa simpática (Ebling e Hasting, 1992; Chemineau e Malpoux, 1998; Traldi *et al.*, 2007). Os ciclos ambientais de luz e escuridão controlam o ritmo de secreção pineal da melatonina. A variação diária da luminosidade converte-se num ciclo de elevada secreção de melatonina durante a noite e baixa durante o dia. Em períodos de dias longos e noites curtas, há uma grande acumulação de serotonina, o que provoca, durante a noite, grandes picos de melatonina que inibem a produção de GnRH pelo hipotálamo. Por sua vez, em períodos de dias curtos e noites longas, a produção de serotonina é consideravelmente menor, o que estimula, durante a

noite, a existência de picos de melatonina de menor amplitude, deixando de haver inibição da GnRH e, consequentemente, aumentando os níveis de FSH e LH no sangue (Ebling e Hasting, 1992).

A melatonina não actua directamente nos neurónios secretores da GnRH, mas envolve uma rede complexa de circuitos interneurais que incluem, pelo menos, neurónios mediados por dopamina, serotonina e outros aminoácidos neurotransmissores assim como substâncias opiáceas. A acção final desta indoleamina é a modulação da secreção hipotalâmica da GnRH, que, por sua vez, serve de mediador para a secreção das gonadotrofinas (figura 2; Malpaux *et al.*, 2001; Parvizi, 2000 citados por Simões e Mascarenhas, 2004).

Chemineau *et al.* (1988; citado por Simões e Mascarenhas, 2004) observaram um aumento da frequência e amplitude das secreções da LH com a aproximação da estação reprodutiva em cabras inteiras da raça Saanen. Este aumento, associado à constância das baixas concentrações de estradiol observadas, sugere uma diminuição da resposta do complexo hipotálamo-hipófise aos efeitos inibitórios do estradiol. Também encontraram evidências de que a sazonalidade dos ciclos reprodutivos é causada pela variação da secreção da melatonina, que induz alterações na sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise ao efeito inibitório do estradiol sobre a secreção de LH.



**Fig. 2.** Modelo neuroendócrino representativo da actividade sazonal dos caprinos. Simões e Mascarenhas (2004)

O estradiol sincroniza o ritmo circanual endógeno nas diferentes estações do ano, através de neurónios catecolaminérgicos inibitórios do gerador de descargas de GnRH e, consequentemente, de LH (Simões e Mascarenhas, 2004). Após uma época reprodutiva normal, é atingido um estado refractário à estimulação da melatonina devido à continuação da estimulação através de dias de curta duração, o que conduz, inexoravelmente, à inactividade sexual. A actividade pulsátil da LH é estimulada pela melatonina ao fim de 40 dias, aproximadamente.

A ocorrência de alterações sazonais na concentração plasmática de prolactina sugere que esta desempenha um papel funcional no controlo das secreções gonadotróficas, da actividade gonadal e do comportamento sexual. Segundo Mori *et al.* (1985; citado por Simões e Mascarenhas, 2004), os níveis de prolactina secretados a nível da hipófise anterior estão inversamente associados com a actividade reprodutiva caprina, sendo que a temperatura modifica a influência do fotoperíodo na secreção da prolactina por mecanismos que não envolvem a melatonina (Gebbie *et al.*, 1999).

### **1.5. Comportamento durante o estro**

O estro é reconhecido como um dos fenómenos de especial importância na produção animal, pois é um período de receptividade sexual ao macho limitado a um curto espaço de tempo. Este facto sugere que o comportamento sexual feminino é especificamente de regulação hormonal e que a secreção e a acção das hormonas são essenciais tanto para provocar este comportamento como também na sua expressão.

A detecção eficaz e atempada do estro permite a optimização da gestão e eficiência reprodutivas. Para este efeito, é necessário conhecer quais as alterações de comportamento que ocorrem durante o estro.

O comportamento durante o estro inclui duas fases: a proceptividade e a receptividade. A proceptividade consiste na parte activa do desejo e manifesta-se por vários sinais que constituem manifestações explícitas do desejo sexual da fêmea, tais como, a procura e a estimulação do macho. A receptividade baseia-se na expressão do reflexo de imobilização em resposta às investidas do macho, induzindo à postura que facilita a monta e a cópula, o que normalmente envolve a curvatura da coluna. No início do estro, a proceptividade precede sempre a receptividade, mas à medida que o período de estro avança as duas componentes comportamentais são expressas simultaneamente (Fatet *et al.*, 2010).

No primeiro contacto entre os dois sexos, o papel da fêmea tem uma importância crucial. A fêmea liberta substâncias químicas (feromonas sexuais) com o intuito de atrair o

macho, sendo que este efeito atractivo pode ser detectado a longas distâncias, devendo-se, principalmente, a uma apurada percepção olfactiva.

A fêmea em estro apresenta-se sensível ao odor masculino e responde à estimulação do macho através da imobilização. As cabras exibem outros sinais externos, que são mais ou menos perceptíveis dependendo da raça ou do indivíduo, tais como, agitação (mais evidente no proestro), abanar vigoroso e repetido da cauda, balir (principalmente se o macho estiver ausente), urinar frequentemente, diminuição do apetite e a vulva apresenta-se edemaciada e com fluido mucoso de cor amarelada (Gordon, 2004).

Estes sinais aparecem e desaparecem, progressivamente, com o início e fim do comportamento éstrico (Chemineau et al., 1991).

## **2. Dinâmica folicular durante o ciclo éstrico**

A cabra cíclica normal é submetida repetidamente à secreção de hormonais sexuais esteróides que influenciam tanto o tracto reprodutivo como o comportamento sexual durante o ciclo éstrico. Ao longo deste período, o processo de desenvolvimento folicular ocorre continuamente (Simões *et al.*, 2006).

O processo contínuo de crescimento e regressão de folículos antrais que leva ao desenvolvimento do folículo pré-ovulatório no ovário é conhecido como dinâmica folicular ovárica. Este é um processo dinâmico caracterizado pela emergência de ondas de crescimento folicular sucessivas, sendo que cada onda de crescimento folicular consiste num grupo de folículos recrutados de um *pool* de folículos antrais dependentes de gonadotrofinas (Figueiredo *et al.*, 2000).

O estudo da dinâmica folicular tem como finalidade o melhor conhecimento dos mecanismos fisiológicos que controlam o sistema reprodutor feminino, o que proporciona a optimização da utilização de protocolos de sincronização e indução do ciclo éstrico e de superovulação.

### **2.1. Padrões de crescimento por ondas de crescimento folicular**

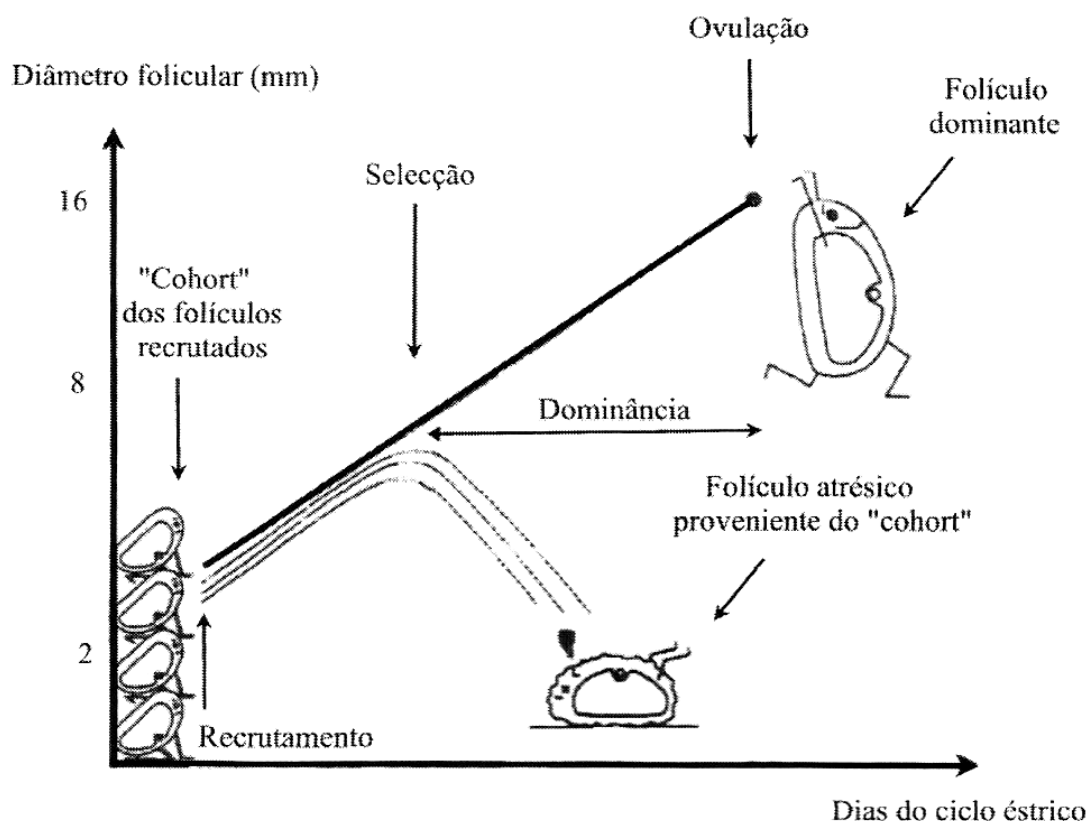
Nas espécies de ruminantes domésticos, nomeadamente os caprinos, o desenvolvimento folicular é efectuado por um padrão caracterizado por ondas de crescimento folicular. Uma onda de crescimento folicular é o desenvolvimento organizado de um *cohort* de folículos gonadotrofino-dependente, que inicialmente aumentam em tamanho mas com o passar do tempo regridem e morrem por atresia (folículos subordinados). A

excepção normal a este evento cíclico ocorre com o(s) folículo(s) ovulatório(s) (Evans, 2003).

Nos caprinos surgem, normalmente, 2, 3, 4 ou mesmo 5 ondas de crescimento folicular por ciclo éstrico, com uma maior frequência de 4 ondas nos intervalos inter-ovulatórios de 19 a 22 dias, sendo que o intervalo entre ondas varia entre 3 a 4 dias (Ginther e Kot, 1994; de Castro *et al.*, 1999; Schwarz e Wierzechos, 2000; Padilla e Holtz, 2000; Menchaca e Rubianes, 2002; Medan *et al.*, 2003c). São diversos os factores que influenciam o número de ondas durante o ciclo, tais como, o regime alimentar, o estado produtivo, a raça e diversos factores ambientais (Ginther *et al.*, 1996 citado por Martins, 2005). Ginther e Kot (1994) concluíram que o fenómeno de dominância folicular é mais comum na onda 1 e 4 do ciclo éstrico e que a ovulação ocorre, normalmente, na onda 4.

Existem dois tipos de ondas de crescimento folicular: onda anovulatória e onda ovulatória. A diferença entre estas ondas é a altura do ciclo éstrico em que ocorrem. Na onda ovulatória, as concentrações plasmáticas de LH aumentam resultando num pulso de LH, o que causa a ovulação do ócito, ao contrário da onda anovulatória. A foliculogénese é o desenvolvimento dos folículos, seguido do recrutamento, selecção, dominância/ovulação e atresia de um ou mais folículos no ovário (figura 3). Como a cabra é uma espécie multiovulatória, pode haver ovulação de mais de um folículo. Existem quatro tipos diferentes de folículos, que representam as diferentes fases de desenvolvimento e maturação em qualquer momento do ciclo éstrico, designadamente folículos primordiais, folículos primários, folículos secundários e folículos antrais. Estes últimos são o *pool* de folículos que podem ser seleccionados durante a fase folicular do ciclo éstrico (Schatten e Constantinescu, 2007).

Durante a fase folicular ocorre o recrutamento, a selecção e a dominância dos folículos antrais, sendo que estes são perdidos, nesta fase, para ovulação ou atresia. O recrutamento de um pequeno grupo de folículos (*cohort*) ocorre quando as concentrações de FSH são altas, as de LH baixas, não há inibina e as concentrações de estrogénio aumentam. Com o fim do recrutamento, os folículos antrais que não sofreram atresia são seleccionados para um maior desenvolvimento e o(s) folículo(s) dominante(s) começa(m) a emergir. À medida que o desenvolvimento avança, as concentrações de estrogénio continuam a aumentar, as de FSH e LH permanecem moderadas e as de inibina são baixas. Durante a dominância, os folículos estão em estado pré-ovulatório e as concentrações de FSH, LH e inibina são baixas e altas, respectivamente (Schatten e Constantinescu, 2007).



**Fig. 3.** Principais eventos ocorridos durante a onda folicular.  
Adaptado de Driancourt, 2001 (citado por Simões e Mascarenhas, 2004)

Posteriormente, ocorre a ovulação, que é caracterizada pela ruptura do(s) folículo(s) dominante(s) (folículo(s) de Graaf), a qual liberta o(s) ócito(s) do(s) folículo(s), dando origem ao CL.

González *et al.* (2001) encontraram evidências que sugerem que, nas cabras, a presença de CL nos ovários não influencia localmente a proporção ou grau de atresia dos folículos nem afecta o tamanho dos folículos.

## 2.2. Mecanismos de regulação endócrinos, neuroendócrinos e intra-ováricos

A ciclicidade éstrica, a sazonalidade dos caprinos e a dinâmica ovárica são condicionadas por numerosas alterações neurais, hormonais e de factores intra-ováricos.

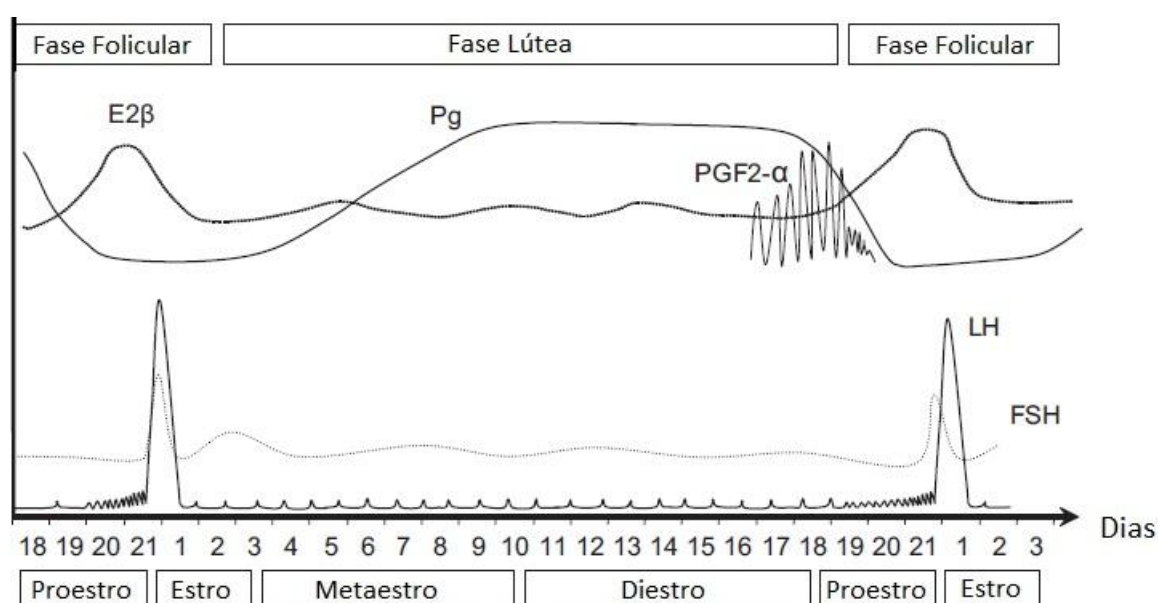
É de referir que o conhecimento do controlo hormonal do crescimento folicular, nomeadamente a duração do corpo lúteo e o perfil das ondas de crescimento folicular, para utilização da IA em tempo fixo é um pré-requisito para se obterem elevadas taxas de gestação sem recorrer à detecção prévia dos estros (Diskin *et al.*, 2002), maximizando o potencial reprodutivo e otimizando a eficiência reprodutiva e a utilização das biotecnologias da reprodução.



### 2.2.1. Eixo gónado-hipotálamo-hipofisário

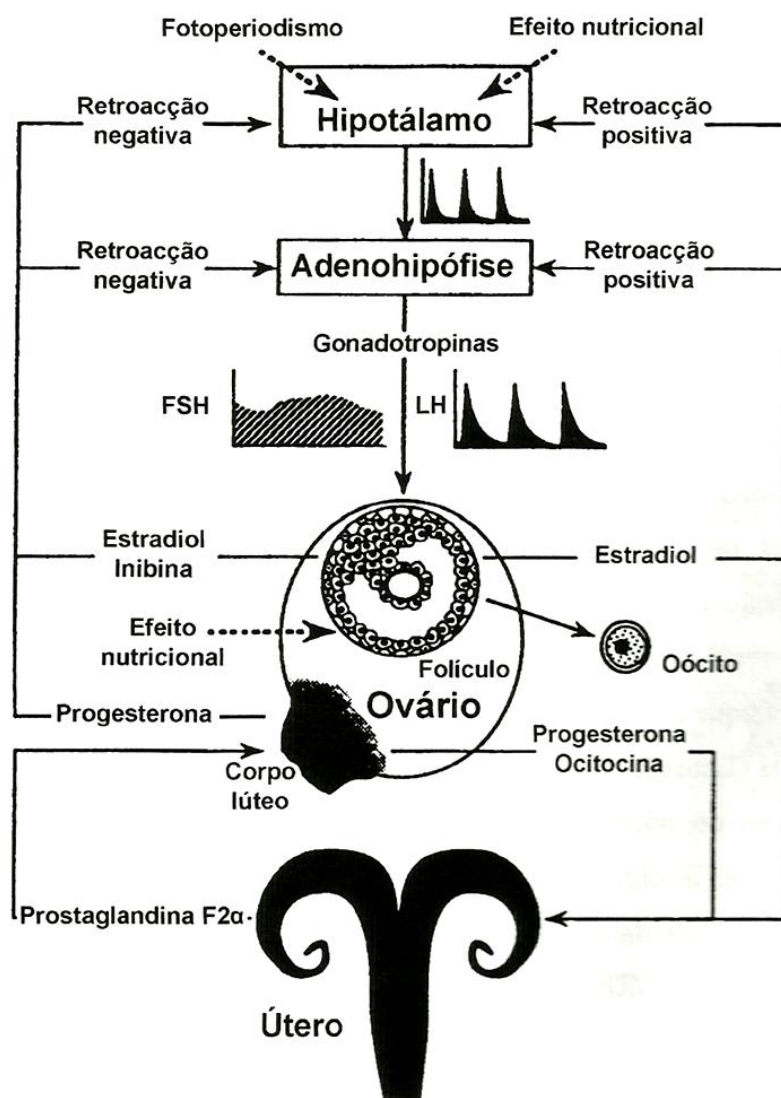
Em associação com outros mecanismos reguladores, o eixo gónado-hipotálamo-hipofisário desempenha um papel fulcral no controlo dos eventos reprodutivos. Este eixo, a partir da segunda metade da vida intra-uterina, já possui os componentes dos mecanismos reguladores para executar a maioria das suas funções endócrinas em fetos de algumas espécies, tais como, ovinos e suínos (Parvizi, 2000).

O ciclo éstrico é regulado por inter-relações hormonais de origem hipotalâmica (GnRH), hipofisária (FSH e LH), folicular (estradiol e inibina), lútea (progesterona e oxitocina) e uterina (PGF<sub>2α</sub>) (Figura 4; Scaramuzzi *et al.*, 1993).



**Fig. 4.** Representação esquemática das alterações fisiológicas que ocorrem durante o ciclo éstrico da cabra: padrão da regulação endócrina. Adaptado de Fatet *et al.* (2010)

A GnRH, decapeptido segregado pelo hipotálamo e que estimula a secreção de FSH e LH pela hipófise anterior, controla a sequência de eventos endócrinos que regulam o ciclo éstrico e a ovulação. As gonadotrofinas FSH e LH, produzidas pela hipófise anterior, têm como função estimular o desenvolvimento folicular, originando a ovulação e o desenvolvimento do CL subsequente. Por sua vez, a inibina e o estradiol, segregados pelos folículos, e a progesterona, produzida pelo CL formado após a última ovulação, regulam o desenvolvimento folicular através do *feedback* negativo que exercem a nível hipofisário e hipotalâmico (figura 5; Stabenfeldt e Edqvist, 1996; Fortune *et al.*, 2004; Simões e Mascarenhas, 2004).



**Fig. 5.** Representação esquemática do eixo gônado-hipotalâmico-hipofisário. Adaptado de Scaramuzzi *et al.*, 1993 (citado por Simões e Mascarenhas, 2004)

Medan *et al.* (2003a,b) demonstraram que a inibina é um importante factor de regulação da secreção de FSH em caprinos, uma vez que a soroneutralização da inibina provoca um aumento da secreção de FSH assim como a indução do desenvolvimento de um maior número de folículos e um aumento da taxa de ovulação.

Após a ovulação, o(s) CL formado(s) segrega(m) progesterona, a qual previne nova ovulação durante o período de diestro e é essencial durante a gestação, caso esta ocorra. O(s) CL começa(m) a estar funcional(ais) um ou dois dias após a ovulação, estando plenamente funcionais cinco dias após este evento (Hafez e Hafez, 2000; Moraes *et al.*, 2001 citado por Martins, 2005). Na ausência de gestação, a oxitocina, libertada pelo próprio

CL, causa a luteólise deste através da secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo endométrio, à qual se segue, por ovulação, um novo ciclo éstrico (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

A regressão do CL, induzida pela  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , é imprescindível para a ocorrência normal da ciclicidade, interferindo, assim, com a dinâmica folicular. Esta regressão é constituída por duas fases distintas no tempo e pelos mecanismos: (a) luteólise funcional, caracterizada pelo declínio rápido da progesterona de origem lútea e (b) luteólise estrutural, constituída pelos eventos que conduzem ao desaparecimento do CL e que ocorre em alguns dias (Meidan *et al.*, 2000). Tanto na ovelha como na cabra, a segregação de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo endométrio é regulada por interacções entre a progesterona, o estradiol e a oxitocina (Cooke *et al.*, 1998).

O *feedback* positivo da concentração de estrogénios, durante o período de estro, desencadeia a secreção hipotalâmica de GnRH, o que, conseqüentemente, conduz a um pico pré-ovulatório de LH, necessário à ovulação. Este evento endócrino único envolve a alteração de mecanismos de *feedback* do estradiol de negativo para positivo (Clarke, 1995 citado por Simões e Mascarenhas, 2004).

Em consonância com estes mecanismos de *feedback* do estradiol, Tanaka *et al.* (1992 e 1995) observaram que a actividade electrofisiológica hipotalâmica geradora de descargas de GnRH, que controla a secreção pulsátil de LH, variava ao longo do ciclo éstrico da cabra. No entanto, sugeriram a existência de um eventual mecanismo neural que medeia o *feedback* positivo entre o estradiol e a secreção de LH. Este mecanismo é intrinsecamente diferente da actividade hipotalâmica geradora de descargas de GnRH.

Importa salientar, também, que Kawate *et al.* (2000) demonstraram que a manutenção da funcionalidade dos CL durante o ciclo éstrico é totalmente dependente do suporte fornecido pela LH, excepto na fase inicial do desenvolvimento do CL, em que a dependência é parcial. Em conformidade com este facto, a regressão do CL não pode ser atribuída ao declínio dos estímulos luteotróficos (especialmente de LH), mas sim à presença de um factor luteolítico produzido pelo endométrio, a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Moraes *et al.*, 2001 citado por Martins, 2005). No entanto, é consensual que o pico pré-ovulatório da LH é essencial à ovulação e à luteinização das células da granulosa do(s) folículo(s) ovulado(s) (Sangha *et al.*, 2002).

O fotoperíodo e a nutrição são dois dos principais factores externos que afectam o mecanismo funcional do eixo gónado-hipotálamo-hipofisário e, conseqüentemente, o ciclo éstrico e a ovulação (Scaramuzzi *et al.*, 1993), o que torna essencial conhecer como estes factores afectam os mecanismos reguladores a fim de obter a optimização da eficiência reprodutiva.

Para este efeito, é necessário, também, ter o conhecimento da evolução da concentração plasmática das principais hormonas durante o ciclo éstrico das cabras. No caso da progesterona, Thornburn e Scheider (1972) observaram que no dia do estro a concentração é de 0,2 ng/mL, atingindo o valor máximo de 4 ng/mL por volta do dia 10 do ciclo e diminuindo rapidamente nos últimos três dias do ciclo éstrico. Quanto ao estradiol, Bono *et al.* (1983) determinaram que os níveis basais situam-se entre 10 a 19 pg/mL, sendo que atingem um nível máximo de  $26,9 \pm 3,09$  pg/mL aquando do pico ovulatório de LH. O aumento das concentrações plasmáticas de estradiol induz, por um mecanismo de *feedback* positivo, 10 a 15 horas após o início do estro, um pico pré-ovulatório de LH de mais de 50 ng/mL e com uma duração de 8 a 10 horas. O estradiol é suficiente, sem a acção prévia da progesterona, para a indução do comportamento de estro na cabra (Sutherland, 1987b citado por Chemineau e Delgadillo, 1994).

No que diz respeito à LH, os níveis plasmáticos desta gonadotrofina diminuem de  $1,33 \pm 0,06$  ng/mL para  $0,56 \pm 0,44$  ng/mL nos primeiros dias do ciclo éstrico e mantêm-se constantes até ao dia 13 do ciclo, sofrendo a partir deste dia um aumento até aos  $2,20 \pm 0,15$  ng/mL por volta do dia 18 (Kawate *et al.*, 2000; Kanai e Ishikawa, 1988). Nas cabras, a diminuição repentina de progesterona imediatamente após a luteólise provoca um forte aumento da frequência e amplitude dos picos de LH, estimulando o crescimento dos folículos >1 mm de diâmetro (Sutherland, 1987c citado por Chemineau e Delgadillo, 1994). As concentrações crescentes de estradiol, produzido pelo(s) folículo(s) pré-ovulatório(s), servem como sinal ovulatório através dos mecanismos que regulam a secreção da GnRH e das gonadotrofinas (Clarke, 1995 citado por Simões e Mascarenhas, 2004), pois o valor máximo do pico de LH é observado 3 horas após o valor máximo da descarga de  $17\beta$ -estradiol (Chemineau *et al.*, 1982). Finalmente, no que concerne à FSH, os níveis plasmáticos desta hormona hipofisária mantêm-se entre 2 a 4 ng/mL durante todo o ciclo éstrico, excepto por altura do pico pré-ovulatório de LH durante a qual aumentam (Schwarz e Wierzechos, 2000 citado por Simões e Mascarenhas, 2004). No entanto, Medan *et al.* (2003c) conseguiram observar flutuações significativas de FSH ao longo do ciclo éstrico, com aumento aquando da emergência de cada onda folicular seguindo-se um decréscimo quando o folículo dominante cresce até aos 5 mm de diâmetro.

Como os caprinos são uma espécie sazonal, o fotoperíodo tem uma influência marcada nos níveis destas hormonas. As alterações fotoperiódicas devido à época do ano actuam sobre o Sistema Nervoso Central, sendo que a modulação do feedback negativo do estradiol sobre a LH é o mecanismo responsável pela baixa actividade reprodutiva durante o período de anestro (Chemineau e Delgadillo, 1994).

### **3. Métodos de controlo do ciclo éstrico**

A sazonalidade reprodutiva representa uma adaptação natural dos animais para que as épocas de parto coincidam com os períodos de melhor clima e maior disponibilidade forrageira, condições fundamentais para uma melhor taxa de sobrevivência da descendência. Contudo, esta sazonalidade representa uma importante barreira na exploração comercial dos pequenos ruminantes, quando se têm em atenção exigências económicas e de mercados (Horta e Gonçalves, 2006).

Devido a estas exigências, os caprinicultores têm interesse em que os partos sejam concentrados, tanto quanto possível, durante os meses de Outubro e Novembro, pois permite uma melhor valorização dos cabritos e uma maior produção leiteiras das fêmeas. As cabras paridas no Outono produzem mais leite e têm uma melhor persistência de lactação do que as paridas na Primavera (Corteel, 1985 citado por Azevedo *et al.*, 1993).

Assim, a redução da duração do período de anestro e o controlo do retorno à actividade reprodutiva, deslocando e dilatando a estação de reprodução, são importantes objectivos económicos na indústria da produção de pequenos ruminantes. Nas fêmeas em anestro, a época de reprodução pode ser antecipada através da indução hormonal da ovulação e da IA ou, em determinadas condições, através de estímulos neuroendócrinos produzidos pela presença e actividade sexual dos machos, o efeito macho, e/ou através de estímulos provocados pela manipulação do fotoperíodo. Existem também protocolos que associam alguns destes métodos a fim de que haja uma redução da utilização de hormonas na indução do estro assim como na sua sincronização.

#### **3.1. Modulação do fotoperíodo**

Em alternativa aos tratamentos hormonais, a actividade reprodutiva pode ser estimulada em período de anestro através do tratamento luminoso ou fotoperiódico. Este método é normalmente associado à monta natural e é cada vez mais utilizado em rebanhos de produção de leite em sistema intensivo. Contudo, é uma técnica pouco utilizada em regimes extensivos pois requer instalações e condições de manejo que são relativamente difíceis de alcançar nestes sistemas (Mascarenhas, 2006).

O tratamento luminoso consiste em simular, no fim do Inverno/início de Primavera, os dias longos de Verão durante dois a três meses, ou seja, fornecer aos animais 16 horas de luz diárias, seguidos do regresso aos dias naturais. Nestes casos, o tratamento fotoperiódico deve começar cedo no Inverno e acabar no fim de Março (início da Primavera). Nesta altura do ano, a diferença da duração dos dias, 16 horas contra 12 horas, é suficiente para simular

a passagem para dias curtos. Quanto maior for a diferença da duração “dias longos” – “dias curtos” mais forte será o estímulo induzido aos reprodutores (Mascarenhas, 2006).

A iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes permite obter a simulação de dias longos, sendo que a intensidade luminosa das mesmas deve ser de 200 a 300 lux ao nível dos olhos dos animais. A iluminação é realizada através de um *timer* que activa as lâmpadas fluorescentes em dois períodos, 3 horas antes do amanhecer (das 6 às 9 horas) e 4 horas após o anoitecer (das 18 às 22 horas). Estes *flashes* permitem que os animais tenham a percepção dos dias como tendo 16 horas de luz e 8 horas de escuridão. Este tratamento deve ter a duração de, pelo menos, 75 dias (Mascarenhas, 2006; Pellicer-Rubio *et al.*, 2007).

Como o tratamento fotoperiódico induz a actividade sexual nas fêmeas mas não consegue sincronizar suficientemente a ovulação para permitir a IA, este método de reprodução é acoplado a outro método natural, o efeito macho, 35 a 70 dias após o fim do tratamento luminoso. Os resultados de fertilidade obtidos são semelhantes aos da estação de reprodução (Ouin, 1997; Traldi *et al.*, 2000 citados por Traldi *et al.*, 2007).

### **3.2. Efeito macho**

Assim como a utilização do fotoperíodo artificial, o efeito macho é também utilizado como alternativa aos tratamentos hormonais na estimulação da actividade reprodutiva em cabras em anestro, pois os caprinos são sensíveis ao seu ambiente social. Este método é normalmente associado à monta natural e está a ser cada vez mais implementado em rebanhos de produção de leite em sistema intensivo (Mascarenhas, 2006).

O efeito macho pode ser usado para antecipar a estação reprodutiva, tornar a puberdade mais precoce ou fornecer algum grau de sincronização do estro na fase tardia do anestro sazonal (Martin *et al.*, 1986; Evans *et al.*, 2004). A introdução repentina de machos num rebanho de fêmeas em anestro sazonal, após uma separação completa de dois ou três meses, provoca o aparecimento de ovulações sincronizadas em média nos 2,5 dias que se seguem (Leboeuf, 2001) e induzirá o estro 24 a 72 horas após a introdução dos machos, favorecido pela interacção sexual e resposta em cadeia. Estes eventos podem surgir devido à libertação de LH cerca de 10 horas após a introdução dos machos (Chemineau, 1989; Shelton, 1980 citado por Traldi *et al.*, 2007). Porém, a ovulação provocada por este pico de LH apenas é acompanhada de estro em cerca de 68% dos casos e é seguida por uma luteólise prematura (ciclos curtos), numa percentagem que pode atingir os 76% das fêmeas (Chemineau, 1983). No entanto, a progesterona produzida pelo(s) CL de curta duração actua como *priming* que desencadeia novos ciclos ovulatórios de duração e fertilidade

normais (Chemineau, 1989; Martin *et al.*, 2004). Walken-Brown *et al.* (1993) demonstraram que a segunda ovulação, sempre acompanhada de estro, é observada 5 a 7 dias após a introdução dos machos em cerca de 75% das cabras, como resultado de uma primeira fase lútea de curta duração, fundamentando assim a hipótese referida anteriormente.

Do ponto de vista prático e económico, o efeito macho tem a vantagem de permitir a antecipação da estação reprodutiva cerca de 4 a 6 semanas ou mesmo mais, consoante a expressão da sazonalidade da raça em questão, fornecendo uma boa sincronização do estro e, conseqüentemente, dos partos e desmame. Os resultados obtidos com a utilização do efeito macho são similares aos obtidos com a utilização de tratamentos hormonais, com a vantagem do seu baixo custo e da ausência de resíduos hormonais, um factor actualmente de grande importância dadas as enormes pressões dos consumidores (Ungerfeld, 2003; Traldi *et al.*, 2007).

O efeito macho parece depender principalmente de sinais olfactivos com origem em feromonas produzidas pelos machos que aumentam a secreção de LH, por estímulo dos androgénios (Gelez e Fabre-Nys, 2004), em associação com estímulos comportamentais gerados essencialmente durante a actividade de interacção entre sexos (Rosa e Bryant, 2002). Outro factor do qual parece também depender a resposta da fêmea é a experiência adquirida (Rosa e Bryant, 2002).

A resposta da fêmea ao macho depende da intensidade do estímulo e da receptividade da fêmea, ou seja, da profundidade do anestro. Fêmeas de raças com um forte padrão sazonal não responderão por mais forte que seja o estímulo, ao passo que em fêmeas de raças pouco sazonárias, no final do período de anestro, bastará um estímulo ligeiro (Ungerfeld, 2003), sendo este o caso das raças caprinas nacionais.

Este método de reprodução é normalmente associado a outros métodos reprodutivos, pois estas associações permitem elevadas eficiências reprodutivas.

### **3.3. Suplementação energética**

A suplementação energética ou *flushing* é um método simples e eficaz na estimulação da ovulação, mas, em condições de campo, não é fácil fazer uma distribuição precisa por cada animal.

A maioria das características do ciclo reprodutivo pode ser modulada a partir de uma nutrição adaptada, pois existe um custo energético associado às componentes comportamentais e fisiológicas do processo reprodutivo, ilustrado pela baixa performance reprodutiva observada em cabras (assim como ovelhas) com uma alimentação limitada.

Recentemente, novas estratégias nutricionais foram desenvolvidas tendo como base o conhecimento detalhado das necessidades nutricionais para cada fase do processo reprodutivo e da interacção entre o estado metabólico e a performance reprodutiva. Tanto em cabras como em ovelhas, um aumento do nível nutritivo da alimentação, antes do estro, estimula a ovulação, pois um aumento da condição corporal assim como uma suplementação precisa são conhecidos por afectar a foliculogénese. Assim, a alimentação pode aumentar consideravelmente a prolificidade pela optimização da taxa de ovulação, sendo o único limitante nesta equação os limites biológicos do animal (Blanche e Martin, 2009).

As gorduras e óleos são nutrientes essenciais na alimentação animal, pois proporcionam uma fonte altamente concentrada de energia, além de serem componentes críticos da estrutura física e funcional das células. A suplementação lipídica melhora a eficiência alimentar, uma vez que os lípidos possuem uma maior energia metabolizável do que as proteínas ou os hidratos de carbono. A inclusão de gordura na dieta de ruminantes pode constituir um problema, uma vez que altos níveis de gordura podem inibir a fermentação ruminal através da inibição mecânica da acção da microflora celulolítica e de um efeito tóxico dos ácidos gordos insaturados sobre as membranas celulares bacterianas. Para evitar este efeito tóxico, utiliza-se a gordura protegida, que corresponde a ácidos gordos de cadeia longa que ficam livres num processo de cisão dos triglicéridos em óleos vegetais para, em seguida, reagirem com sais de cálcio, formando assim os popularmente conhecidos sabões de cálcio (Gressler e Souza, 2009). A utilização de ácidos gordos essenciais na forma de suplemento protegido é capaz de suprimir todas as necessidades energéticas do animal e, conseqüentemente, ter uma influência positiva na condição corporal do animal, na taxa de fertilidade e na produção de leite (Ghoreishi et al., 2007).

Santos et al. (2008) observou, em ovelhas, que as influências significativas exercidas pela nutrição sobre a função reprodutiva ocorrem através de modificações no peso e na condição corporal, afectando os processos reprodutivos de foliculogénese. Scaramuzzi et al. (2006), ao utilizarem planos de *flushing* de curta duração em ovelhas, mostraram que há um aumento ligeiro da concentração de FSH e uma diminuição da concentração de estradiol, sendo esta última mais evidente na fase folicular do ciclo éstrico. Assim como Santos et al. (2008), Scaramuzzi et al. (2006) também concluíram que o efeito do *flushing* nos ovários é a estimulação da foliculogénese, estando estas alterações associadas às alterações intra-foliculares dos sistemas metabólicos insulina-glucose, IGF (factor de crescimento semelhante à insulina) e leptina. A estimulação destes sistemas intra-foliculares leva à supressão da segregação de estradiol por parte dos folículos. A consequência directa desta



acção no folículo é a redução do *feedback* negativo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário e o aumento da secreção de FSH, que leva posteriormente à estimulação da foliculogénese.

Foi comprovado que a resposta da cabra à exposição ao macho pode ser influenciada pelo seu estado nutricional. A percentagem de cabras que apresentam comportamento de estro assim como a respectiva taxa de ovulação em resposta ao efeito macho foram sempre superiores nos grupos suplementados em relação aos grupos não suplementados (Santiago-Miramontes *et al.*, 2008; Fitz-Rodríguez *et al.*, 2009). No entanto, o *timing* e duração óptima da suplementação nutricional em relação ao efeito macho ainda não foram determinados com precisão tanto em cabras como em ovelhas (Martin *et al.*, 2004).

### **3.4. Métodos farmacológicos/hormonais**

Os métodos farmacológicos têm como função melhorar a eficiência reprodutiva para, em última análise, serem associados à inseminação artificial. No entanto, esta técnica requer sincronização do estro, existindo assim dois tipos de métodos farmacológicos para este fim. O primeiro tipo de método consiste na administração de progestagénios (progesterona sintética), que estimulam a acção de um CL funcional, prolongando, assim, a fase lútea do ciclo éstrico. Por outro lado, o segundo tipo de método baseia-se na administração de PGF<sub>2α</sub> ou seus análogos sintéticos, diminuindo a duração do CL (efeito luteolítico).

Ao contrário dos tratamentos progestagénicos, que podem ser usados em qualquer altura do ano, os tratamentos que utilizam prostaglandinas dependem da presença de um CL funcional, só podendo ser utilizados na época reprodutiva (Evans e Maxwell, 1990) se utilizados como tratamento único. No entanto, estes dois tratamentos são normalmente combinados quando se pretende a sincronização e indução do estro.

O tratamento hormonal para indução do estro e da ovulação utiliza a administração de hormonas, vulgarmente análogos sintéticos, para provocar artificialmente as variações das secreções endócrinas que controlam o ciclo sexual das fêmeas. A progesterona inibe a ovulação, de modo que, o cessar da sua administração provoca o aparecimento do estro e, consequentemente, da ovulação. Nas cabras, quando se administram progestagénios, estes actuam da mesma forma que o CL, suprimindo a libertação de gonadotrofinas hipofisárias, o que inibe o aparecimento do estro e, consequentemente, da ovulação. Quando se suprime este tratamento, a hipófise aumenta a libertação de gonadotrofinas, estimulando o crescimento dos folículos e provocando o aparecimento do estro 2 a 3 dias após cessar o tratamento (Chemineau e Cognié, 1991; Traldi *et al.*, 2007).

A sincronização do estro com análogos sintéticos de progesterona data da década de 60 (Robinson, 1967 citado por Traldi *et al.*, 2007) e, desde então, implantes subcutâneos ou pessários vaginais, como esponjas vaginais de poliuretano, foram adoptadas como veículo responsável pelo *priming* de progesterona que precede o tratamento hormonal de indução e/ou sincronização do estro em pequenos ruminantes (Traldi *et al.*, 2007). Estas esponjas impregnadas com hormonas são colocadas durante alguns dias, simulando a fase luteínica do ciclo sexual, o que bloqueia a ovulação até a esponja ser retirada e a hormona eliminada da circulação. A hormona mais utilizada é um análogo da progesterona, o acetato de fluorogestona (FGA), mas, no entanto, também é comum utilizar-se medroxiprogesterona (MAP). Estes análogos são 10 a 20 vezes mais potentes que a progesterona (Mascarenhas, 2006; Traldi *et al.*, 2007).

O protocolo de tratamento mais utilizado até agora consiste na aplicação de uma esponja vaginal impregnada com 45 mg de FGA no caso de cabras múltíparas ou de 40 mg em cabras primíparas ou nulíparas. As esponjas devem ser retiradas ao 11º dia depois da aplicação. No 9º dia são administradas a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (50 µg de cloprostenol) e uma gonadotrofina (400 UI de eCG), por injeção intramuscular, em locais diferentes (nunca misturar as duas substâncias na mesma seringa). Recentemente, demonstrou-se que a utilização de esponjas com 20 mg de FGA não influencia a fertilidade após IA, o que contribui para a redução de possíveis resíduos na carne e no leite (Leboeuf *et al.*, 2003). A IA é efectuada 42 a 45 horas após a remoção das esponjas vaginais.

Outra forma de sincronizar o estro é utilizar um implante subcutâneo que contém melatonina, sendo colocado através de um aplicador e agulha específicos. Este implante permite a libertação constante de melatonina durante 70 dias após a sua introdução, simulando uma condição de ausência de luminosidade ambiente, o que faz com que os animais interpretem como dias curtos, os dias longos da Primavera ou do Verão (Staples *et al.*, 1992; Malpoux *et al.*, 2001). O efeito desta variação sobre o hipotálamo que leva ao retorno à ciclicidade nas fêmeas pode ser observado a partir dos 45 dias após a colocação do implante (Chemineau *et al.*, 1996; Traldi *et al.*, 2000 citado por Traldi *et al.*, 2007; Loureiro, 2003 citado por Traldi *et al.*, 2007). Por não haver dados conclusivos na literatura quanto à indução do estro com uso exclusivo de implante de melatonina em caprinos, este método é usualmente combinado com o tratamento luminoso e o efeito macho (Mascarenhas, 2006; Traldi *et al.*, 2007), com início de manifestação de estro fértil 8 dias após a introdução dos machos (Chemineau *et al.*, 1996). Contudo, quando aplicado isoladamente a raças fortemente sazonárias, o tratamento com melatonina não permite avançar a estação sexual mais do que um mês. Efectivamente, para que os animais possam

reagir aos “dias curtos”, é necessário que tenham experimentado antes um período de dias longos, naturais ou artificiais (Mascarenhas, 2006).

### III. Materiais e Métodos

O ensaio experimental foi desenvolvido na freguesia de Carvalhais, concelho de Mirandela (latitude 41° 29' N), mais especificamente nas instalações da Secção de Produção Animal da Escola Profissional de Agricultura e Desenvolvimento Rural de Carvalhais/Mirandela (EPADR), e teve como objectivo estudar o efeito de tratamentos luminosos, do efeito macho e da suplementação alimentar na eficiência reprodutiva de caprinos de raça Serrana. Este ensaio constitui um dos trabalhos do projecto europeu “Hormone-free non-seasonal or seasonal goat reproduction for a sustainable European goat-milk market” (FLOCK-REPROD), co-financiado pelo programa “Capacidades – Investigação em benefício das PME, 7º Programa Quadro da União Europeia”. Neste projecto participam a Associação Nacional de Caprinicultores da Raça Serrana (ANCRAS), o Instituto Nacional de Recursos Biológicos/Instituto Nacional de Investigação Agrária (INRB, I.P./INIA) - Unidade de Recursos Genéticos, Reprodução e Melhoramento Animal (URGRMA) e mais 13 parceiros de 7 Estados Membros.

O esquema geral das actividades realizadas durante o ensaio experimental encontra-se abaixo apresentado.



**Fig. 6.** Esquema representativo das actividades realizadas durante o ensaio.

#### 1. Animais

Na realização do presente trabalho foram utilizadas 80 cabras adultas com idades compreendidas entre os 2 e 6 anos da raça Serrana, ecotipo Transmontano, vazias, em lactação e que no ano anterior tinham sido utilizadas num ensaio com um protocolo semelhante.

Todos os animais foram alimentados em pastoreio tradicional, isto é, prados naturais, incultos e terrenos baldios, sendo suplementadas duas vezes por dia, aquando da ordenha,

com 200 g (200g x 2 ordenhas diárias = 400g diários) de um alimento concentrado adequado ao seu estado de produção/fisiológico (CAPRILACTAL SUPER®, Alimentação Animal NANTA, S.A.), podendo a sua composição analítica ser observada no Quadro 1. Durante a noite, as cabras foram suplementadas, em grupo, com cerca de 350-500 g de feno de aveia por animal. As cabras, quando confinadas, tinham acesso *ad libitum* à água e a blocos de minerais. Um mês antes do início do estudo todas as cabras estavam paridas, encontrando-se em anestro pós-parto, ao qual se seguiu o anestro sazonal. Foram utilizados, também, 10 bodes adultos (com idades compreendidas entre os 2 e 6 anos) da raça Serrana, ecotipo Transmontano.

Todos os animais foram sujeitos a um programa adequado de desparasitação antes do período de ensaio.

**Quadro 1.** Composição analítica do alimento concentrado para cabras em lactação.

<b>Constituintes Analíticos</b>	<b>Percentagem de incorporação (% MS)</b>
Proteína Bruta	22%
Gordura Bruta	4,5%
Fibra Bruta	7,1%
Cinza	8,6%
Sódio	0,41%
Cálcio	1,1%
Fósforo	0,6%

## **2. Indução e sincronização do estro**

Após a época de partos, as cabras foram divididas aleatoriamente em dois lotes com 40 animais cada e devidamente identificadas, a fim de um dos grupos ser sujeito a um tratamento luminoso artificial (grupo T) e o outro ser o grupo controlo (grupo C). Este último foi sujeito, durante todo o período de ensaio, ao fotoperíodo natural. O mesmo protocolo foi aplicado aos machos, havendo dois grupos com 5 bodes cada. No entanto, neste trabalho a performance reprodutiva dos machos não foi avaliada, constando esta avaliação no relatório anual do projecto europeu em que este trabalho se encontra inserido.

## 2.1. Modulação do fotoperíodo

A manipulação artificial do fotoperíodo teve lugar num estábulo devidamente equipado para este fim. Primeiramente, machos e fêmeas foram separados e colocados em estábulos diferentes sem qualquer contacto físico, visual ou olfactivo. Em seguida, foram sujeitos ao fotoperíodo longo (16 h de luz e 8 h de escuro, 16L:8D) durante cerca de 70 dias. Os dias longos foram simulados através da iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes com uma intensidade luminosa compreendida entre os 200 a 300 lux ao nível dos olhos dos animais, sendo que foram estabelecidos dois períodos de iluminação artificial durante o dia. A intensidade luminosa foi medida com o auxílio de um luxímetro. Um *timer* automático activava as lâmpadas fluorescentes 3 horas antes do amanhecer (das 6 às 9 horas) e 4 horas após o anoitecer (das 18 às 22 horas), durante o período de tratamento. No final do tratamento luminoso artificial, os animais foram novamente expostos ao fotoperíodo natural, mantendo-se a separação por sexos.

## 2.2. Suplementação lipídica

Cinquenta e seis dias após o fim do tratamento luminoso artificial (7 dias antes da introdução dos machos), os dois grupos previamente constituídos, C e T, foram subdivididos equitativamente (n=20) em dois subgrupos cada, subgrupo suplementado (S) e subgrupo não suplementado (NS). A suplementação foi realizada na sala de ordenha durante 14 dias, desde 7 dias antes da introdução dos machos até 7 dias após a sua introdução, sendo distribuídos 75 g por animal duas vezes por dia, antecedendo as duas ordenhas diárias.

O suplemento utilizado tem incorporado como matérias-primas principais sementes de linho (linhaça) e sabões cálcicos de óleo de palma e a sua composição analítica está descrita no Quadro 2.

**Quadro 2.** Composição analítica do suplemento lipídico para cabras em lactação.

Constituintes Analíticos	Percentagem de incorporação (% MS)
Proteína Bruta	15%
Gordura Bruta	50%
Fibra Bruta	7,5%
Cinza	8,0%
Sódio	0,03%
Cálcio	5,0%

### **2.3. Efeito macho**

Sessenta e três dias após o final do tratamento luminoso artificial, 3 machos de cada grupo, C e T, foram escolhidos aleatoriamente e colocados com as fêmeas agora reunidas num só grupo, com o intuito de induzir o estro através do efeito macho. Os machos permaneceram com as fêmeas durante 35 dias para assegurar a fertilização por monta natural. O dia de introdução dos machos foi designado o dia 0 (D0).

### **2.4. Condição corporal**

Mensalmente, procedeu-se à determinação da condição corporal a 10 cabras de cada sub-grupo (C.NS, C.S, T.NS e T.S) escolhidas aleatoriamente, por palpação a nível lombar e do esterno, de acordo com a tabela de Hervieu *et al.* (1999), a qual emprega uma escala que varia de 0 (extrema magreza) e 5 (obesidade). Neste trabalho os intervalos de classificação foram de 0,5 pontos.

## **3. Análises**

As várias análises/doseamentos plasmáticos do sangue recolhido aos caprinos foram efectuadas no Laboratório de Endocrinologia pertencente à Unidade de Recursos Genéticos, Reprodução e Melhoramento Animal (URGRMA) do Instituto Nacional de Recursos Biológicos/Instituto Nacional de Investigação Agrária (INRB, I.P./INIA), Santarém.

### **3.1. Análise da actividade ovárica**

Após o início do tratamento luminoso artificial, procedeu-se, semanalmente, a recolhas de sangue a 20 cabras de cada grupo (C e T, subdivididos em S e NS), com o objectivo de avaliar a actividade ovárica. Com a introdução dos machos no rebanho (D0), a colheita de sangue passou a ser realizada diariamente até ao dia 14 após a introdução dos machos (D14). As colheitas de sangue foram executada com o auxílio de tubos de colheita vacuonizados e heparizados através de punção da veia jugular, sendo realizada sempre no mesmo período entre as 7 as 9 horas.

Após a colheita, procedeu-se à centrifugação do sangue numa centrífugadora Thermo Scientific Heraeus Labofuge 200, a 3.000 rpm durante 15 minutos, procedeu-se à separação do plasma sanguíneo para tubos eppendorf. As amostras de plasma eram então congeladas a -20°C.

### **3.2. Pico pré-ovulatório de LH**

Entre D5-D9 após a introdução dos machos (D0), foram recolhidas amostras de sangue a 5 cabras de cada um dos 4 subgrupos (n=20) durante 120 horas a intervalos de 4 em 4 horas com o intuito de identificar o pico de LH que precede a ovulação. A recolha de sangue e preparação do plasma foram realizadas como descrito em 3.1.

### **3.3. Detecção do estro**

Aquando da entrada dos machos no rebanho, com o objectivo de se proceder à detecção das cabras em estro, os bodes introduzidos foram munidos de um arnês com marcador colorido até ao D14, substituindo-se o marcador sempre que necessário. O registo dos estros foi efectuado duas vezes por dia, de manhã (7:00) e de tarde (19:00), por identificação das fêmeas marcadas na sala de ordenha.

### **3.4. Diagnóstico de gestação**

Aos 45 dias (19 de Julho de 2011) após a retirada dos machos, procedeu-se ao diagnóstico de gestação por ultrasonografia em tempo real, utilizando para o efeito um ecógrafo Aloka Prosound 2 (Aloka Co., Ltd, Tóquio, Japão) e uma sonda transrectal UST – 660 de 7,5 MHz.

### **3.5. Análise estatística**

A acção da condição corporal, a proporção de cabras em estro, o número de cabras com ciclos curtos (ciclos menores que os ciclos normais de 21 dias), a proporção de cabras gestantes e a fertilidade foram comparadas através da utilização do teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). O intervalo entre a introdução dos machos e o aparecimento do comportamento do estro e a duração dos ciclos curtos foram analisados através da utilização do teste t de amostras emparelhadas (paired sample t test). Os dados foram analisados pela aplicação do software R Project for Statistical Computing (2011). Em todos os testes estatísticos foi utilizado um intervalo de confiança de 95% (nível de significância de 5%).



## IV. Resultados

No decorrer do ensaio experimental, ocorreram no total 5 mortes por motivo desconhecido, 3 no grupo C e 2 no grupo T, o que se reflecte também nos grupos NS e S. Portanto, os grupos C e S ficaram reduzidos a 37 animais e os grupos T e NS reduzidos a 38 animais (Quadro 3).

**Quadro 3.** Número de animais que constituem cada grupo.

Grupo	C	T	NS	S
Número de animais (n)	37	38	38	37

### 1. Condição corporal

Os resultados referentes à variação da condição corporal encontram-se apresentados no Quadro 4. Neste pode-se observar que, entre o início do ensaio e o início do *flushing*, a condição corporal das cabras aumentou significativamente nos grupos C ( $p < 0,05$ ) e T ( $p < 0,05$ ). No início do ensaio, não foram determinadas diferenças significativas entre os grupos C e T ( $p > 0,05$ ), verificando-se a mesma situação entre os grupos C.NS, C.S, T.NS e T.S ( $p > 0,05$ ) aquando do início da suplementação energética. Na fase final do ensaio, tal como na fase inicial, a condição corporal dos animais não diferiu significativamente entre os grupos C e T ( $p > 0,05$ ) e entre os grupos C.NS, C.S, T.NS e T.S ( $p > 0,05$ ). Verifica-se, também, que tanto o tratamento luminoso artificial como a suplementação energética não afectam significativamente a condição corporal ( $p > 0,05$ ).

Durante o período de ensaio, 85,7% do total das cabras aumentaram ou mantiveram a sua condição corporal e 14,3% diminuíram a condição corporal. Pela análise do Quadro 5 pode constatar-se que 62,2% das cabras que ficaram gestantes aumentaram ou mantiveram a condição corporal, enquanto que 8,1% das cabras gestantes diminuíram a condição corporal. A proporção de cabras que aumentaram ou mantiveram a sua condição corporal não diferiu entre grupos ( $p > 0,05$ ), assim como a proporção de cabras que diminuíram a condição corporal ( $p > 0,05$ ). A condição corporal apresentada pelas cabras dos quatro grupos não influenciou, de uma forma estatisticamente significativa, os parâmetros reprodutivos, nomeadamente a percentagem de cabras gestantes ( $p > 0,05$ ).

**Quadro 4.** Evolução da condição corporal das cabras dos grupos C e T e dos grupos C.NS, C.S, T.NS e T.S entre o início e o fim do ensaio (média  $\pm$  desvio padrão).

Grupo	18-01-2011 <sup>1</sup>	15-02-2011	05-04-2011	10-05-2011 <sup>2</sup>	19-07-2011 <sup>3</sup>
<b>C (n=18)</b>	1,97 $\pm$ 0,65 <sup>a,x</sup>	2,15 $\pm$ 0,39 <sup>a,x</sup>	2,57 $\pm$ 0,63 <sup>b,x</sup>	-	-
<b>T (n= 19)</b>	2,17 $\pm$ 0,41 <sup>a,x</sup>	2,22 $\pm$ 0,54 <sup>a,x</sup>	2,75 $\pm$ 0,55 <sup>b,x</sup>	-	-
<b>C.NS (n= 10)</b>	-	-	-	2,20 $\pm$ 0,50 <sup>a,x,w</sup>	2,25 $\pm$ 0,66 <sup>a,x,w</sup>
<b>C.S (n= 8)</b>	-	-	-	2,50 $\pm$ 0,60 <sup>a,x,w</sup>	2,69 $\pm$ 0,73 <sup>a,x,w</sup>
<b>T.NS (n= 9)</b>	-	-	-	2,67 $\pm$ 0,78 <sup>a,x,w</sup>	2,71 $\pm$ 1,02 <sup>a,x,w</sup>
<b>T.S (n=10)</b>	-	-	-	2,43 $\pm$ 0,78 <sup>a,x,w</sup>	2,58 $\pm$ 0,94 <sup>a,x,w</sup>

a  $\neq$  b, para  $p < 0,05$  (entre colunas, mesmo grupo)

x  $\neq$  y, para  $p < 0,05$  (entre linhas, grupo diferente)

w  $\neq$  z, para  $p < 0,05$  (entre linhas, grupo diferente)

<sup>1</sup> início do ensaio

<sup>2</sup> início da suplementação energética

<sup>3</sup> fim do ensaio

**Quadro 5.** Proporção de cabras gestantes dos grupos C.NS, C.S, T.NS e T.S em relação à sua condição corporal.

Grupo	Aumentou ou manteve CC	Diminui CC
<b>C.NS</b>	60,0% <sup>a</sup>	10,0% <sup>a</sup>
<b>C.S</b>	62,5% <sup>a</sup>	12,5% <sup>a</sup>
<b>T.NS</b>	44,4% <sup>a</sup>	11,1% <sup>a</sup>
<b>T.S</b>	80,0% <sup>a</sup>	0,0% <sup>a</sup>
<b>Total</b>	62,2%	8,1%

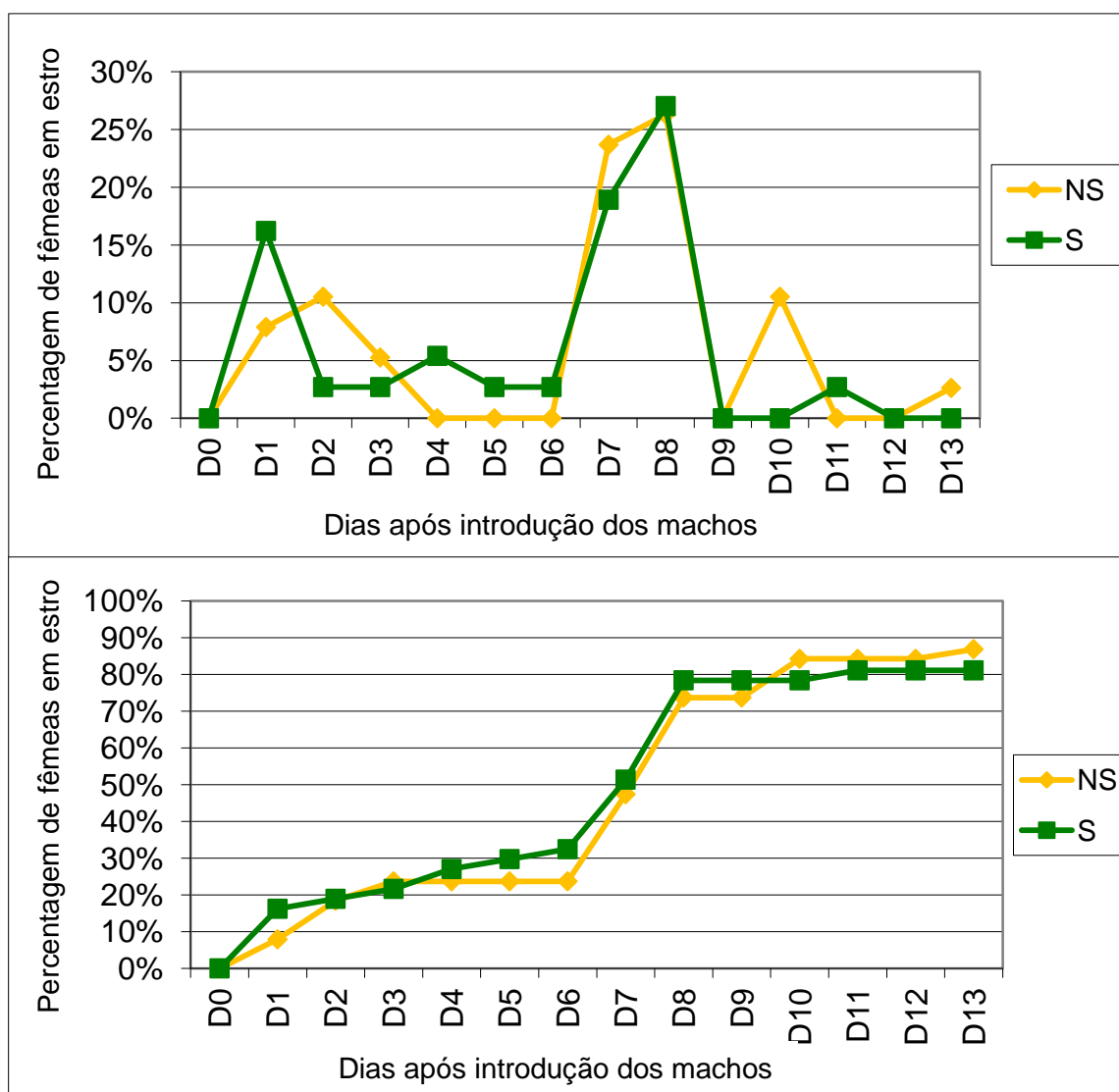
a = a, para  $p > 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

a  $\neq$  b, para  $p < 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

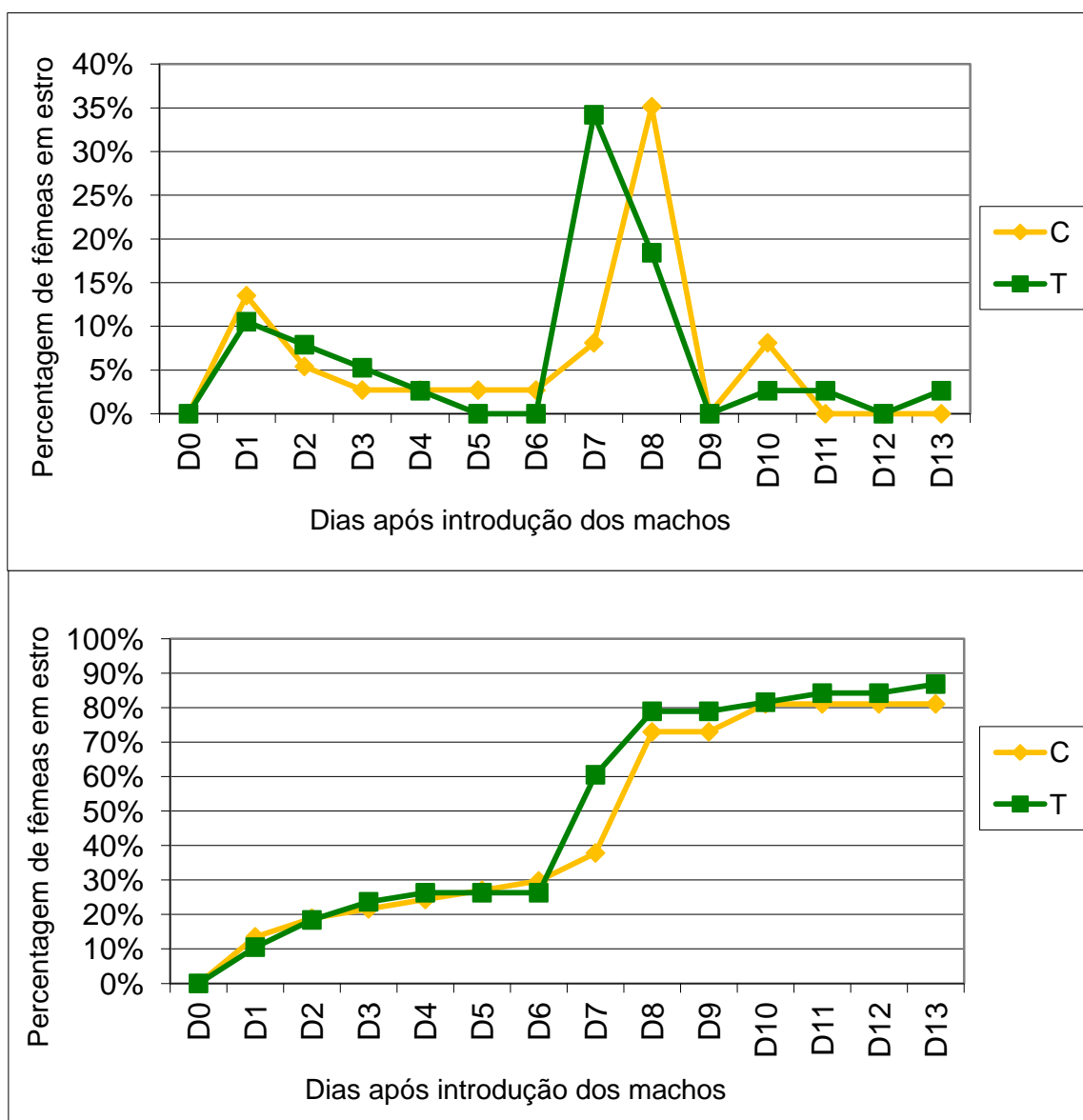
## 2. Efeito macho e comportamento sexual

A análise estatística dos subgrupos C.NS, C.S, T.NS e T.S foi previamente realizada, mas por não haver diferenças significativas entre os mesmos optou-se por analisar os quatro principais grupos C, T, NS e S.

As percentagens diária e cumulativa de cabras dos grupos NS e S e dos grupos C e T que apresentaram comportamento típico do estro durante os 14 dias posteriores à introdução dos machos, obtidas através do número de cabras marcadas com giz marcador, estão representadas nas figuras 6 e 7, respectivamente.



**Fig. 6.** Percentagem diária (em cima) e cumulativa (em baixo) das cabras que apresentaram comportamento característico do estro dos grupos NS e S.



**Fig. 7.** Percentagem diária (em cima) e cumulativa (em baixo) das cabras que apresentaram comportamento característico do estro dos grupos C e T.

Como se pode constatar pela sua observação, um pequeno número de animais, em todos os grupos, não exibiu o comportamento característico do estro durante os 14 dias que seguiram a introdução dos machos.

Este conjunto de animais foi menor no grupo T em relação ao grupo C (13,2% vs 18,9%) embora não seja uma diferença significativa ( $p>0,05$ ). Verificou-se a mesma relação de fundo no que diz respeito aos grupos NS e S (13,2% vs 18,9%), não sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ).

Ao analisar a disposição dos dados demonstrada pelas figuras 6 e 7, verifica-se uma concentração do aparecimento de estros, em todos os grupos ( $p>0,05$ ), entre o dia 7 e o dia

8 após a introdução dos machos, onde cerca de 75% (percentagem cumulativa) das cabras apresentam o primeiro estro. Durante os 14 dias que sucedem a introdução do macho, não ocorreram diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os grupos C e T (81,1% vs 86,8%) e os grupos NS e S (86,8% vs 81,1%). As percentagens, tanto diária como cumulativa, de cabras que manifestaram comportamento típico do estro não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos C e T ( $p>0,05$ ) e entre os grupos NS e S ( $p>0,05$ ).

É de referir também que há uma variação na frequência de cabras marcadas, pois 8% das cabras foram marcadas entre o dia 0 e o dia 5 após a introdução dos machos, 57,3% das cabras foram marcadas entre o dia 6 e o dia 14 e 18,7% das cabras foram marcadas tanto entre o dia 0 e o dia 5 como entre o dia 6 e o dia 14. No entanto, como se pode constatar através do Quadro 6, em qualquer um dos três períodos (D0-D5; D6-D14; D0-D5 e D6-D14) não se verificam diferenças significativas entre os grupos C e T ( $p>0,05$ ) e entre os grupos NS e S ( $p>0,05$ ).

Os resultados referentes ao número de fêmeas a exibir estros seguidos de ciclos curtos (ciclos menores que os ciclos normais de 21 dias), à duração dos estros seguidos e ao intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro nas fêmeas estão expostos no Quadro 7. O intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro nas fêmeas foi igual entre os grupos C e T ( $6,1\pm3,1$  dias vs  $6,1\pm3,1$  dias) e, por conseguinte, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os mesmos ( $p>0,05$ ). No que diz respeito aos grupos NS e S, o intervalo foi menor no grupo S ( $5,7\pm3,0$  dias vs  $6,5\pm3,1$  dias), o que se traduz numa diferença significativa entre os grupos suplementado e não suplementado ( $p<0,05$ ). A proporção de fêmeas a exibir estros com ciclos curtos foi superior no grupo T em relação ao grupo C (21,1% vs 16,2%) e ligeiramente superior no grupo S relativamente ao grupo NS (18,9% vs 18,4%), não sendo, no entanto, estatisticamente significante em relação a nenhum dos grupos ( $p>0,05$ ). A duração de estros com ciclos curtos foi menor no grupo T em comparação com o grupo C ( $4,3\pm1,0$  dias vs  $5,5\pm2,7$  dias), ocorrendo o mesmo em relação aos grupos S e NS ( $3,7\pm1,3$  dias vs  $5,9\pm2,0$  dias). No entanto, as diferenças de duração entre grupos foram estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) somente entre os grupos NS e S.

**Quadro 6.** Proporção de cabras marcadas uma vez entre D0-D5, cabras marcadas uma vez entre D6-D14 e cabras marcadas uma vez em cada um dos períodos (D0-D5 e D6-D14).

Grupo	D0-D5		D6-D14		D0-D5 e D6-D14	
	Marcadas	Não marcadas	Marcadas	Não marcadas	Marcadas	Não marcadas
<b>C</b>	10,8%	89,2%	54,1% <sup>a</sup>	45,9%	16,2% <sup>a</sup>	83,8%
<b>T</b>	5,3%	94,7%	60,5% <sup>a</sup>	39,5%	21,1% <sup>a</sup>	78,9%
<b>NS</b>	5,3%	94,7%	63,2% <sup>a</sup>	36,8%	18,4% <sup>a</sup>	81,6%
<b>S</b>	10,8%	89,2%	51,4% <sup>a</sup>	48,6%	18,9% <sup>a</sup>	81,1%

a = a, para  $p > 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

a ≠ b, para  $p < 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

**Quadro 7.** Número de fêmeas a exibir ciclos curtos, duração dos ciclos curtos (dias) e intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro das cabras (dias).

Grupo	Ciclos curtos		Intervalo introdução macho - 1º estro (dias)
	nº fêmeas	duração (dias)	
<b>C</b>	6	5,5 ± 2,7 <sup>a</sup>	6,1 ± 3,1 <sup>a</sup>
<b>T</b>	8	4,3 ± 1,0 <sup>a</sup>	6,1 ± 3,1 <sup>a</sup>
<b>NS</b>	7	5,9 ± 2,0 <sup>a</sup>	6,5 ± 3,1 <sup>a</sup>
<b>S</b>	7	3,7 ± 1,3 <sup>b</sup>	5,7 ± 3,0 <sup>b</sup>

a = a, para  $p > 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

a ≠ b, para  $p < 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

### **3. Caracterização da resposta ovulatória**

A realização das análises das amostras recolhidas durante o trabalho experimental sofreu um atraso devido a dificuldades não previsíveis na execução financeira do projecto europeu “Hormone-free non-seasonal or seasonal goat reproduction for a sustainable European goat-milk market” (FLOCK-REPROD) e, por conseguinte, não se encontram descritas no presente trabalho. Estas análises destinavam-se a elaborar o perfil das principais hormonas sexuais envolvidas na actividade ovárica, progesterona e LH. Este perfil levaria à determinação do momento exacto da ovulação e da caracterização da actividade ovulatória dos animais dos 4 subgrupos, permitindo avaliar com rigor os efeitos dos tratamentos, nomeadamente a manipulação do fotoperíodo e a suplementação alimentar.

### **4. Parâmetros reprodutivos: Gestação, Fertilidade e Prolificidade**

Os resultados relativos à proporção de cabras gestantes encontram-se representados no Quadro 8. No grupo C a proporção de cabras gestantes foi de 67,6% enquanto que no grupo T esta proporção foi de 73,7%, não apresentando, no entanto, diferenças significativas ( $p>0,05$ ). No grupo NS a proporção de cabras gestantes foi de 68,4% e no grupo S esta proporção foi de 73,0%. Contudo, a diferença apresentada não é significativa ( $p>0,05$ ). Em todos os grupos a proporção de cabras gestantes é maior em cabras que apresentam estros com ciclos curtos (D0-D5 e D6-D14), seguida das cabras que exibem estro após o dia 5 (D6-D14) e, finalmente, das cabras que manifestam estro nos primeiros 5 dias após a introdução dos machos (D0-D5). Todavia, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre grupos neste caso ( $p>0,05$ ). É de referir ainda uma pequena proporção de cabras que não foram marcadas pelos machos e que, no entanto, ficaram gestantes. No grupo C a proporção de cabras não marcadas gestantes foi de 8,1% enquanto que no grupo T foi de 7,9%, não apresentando, no entanto, diferenças significativas ( $p>0,05$ ). No grupo NS esta proporção foi de 2,6% e no grupo S esta proporção foi de 13,5%. Contudo, a diferença apresentada não é significativa entre estes grupos ( $p>0,05$ ).

Os dados referentes à fertilidade e prolificidade dos quatro grupos definidos no ensaio são apresentados no Quadro 9. Nos grupos C e T, as fertilidades não foram diferentes ( $p>0,05$ ), sendo respectivamente 37,8% e 52,6%. No grupo NS a fertilidade foi significativamente superior ( $p<0,05$ ) ao grupo S, cujos valores foram respectivamente 56,8% e 34,2%. A prolificidade foi significativamente superior ( $p<0,05$ ) no grupo NS comparativamente ao grupo S (176,9% vs 123,8%), não sendo diferente ( $p>0,05$ ) entre os grupos C e T (175,0% vs 157,1%).

**Quadro 8.** Proporção de cabras gestantes que foram marcadas uma vez entre D0-D5, marcadas uma vez entre D6-D13 e marcadas uma vez em cada um dos períodos (D0-D5 e D6-D13). Proporção de cabras gestantes que não foram marcadas.

Grupo	Marcadas									Não marcadas		TOTAL
	D0-D5			D6-D14			D0-D5 e D6-D14			Gestantes	Não Gestantes	
	Gestantes	Não Gestantes	Total	Gestantes	Não Gestantes	Total	Gestantes	Não Gestantes	Total			
C	2,7% <sup>a</sup>	8,1%	8,0%	5,4% <sup>a</sup>	10,8%	57,3%	51,4% <sup>a</sup>	32,4%	18,7%	8,1% <sup>a</sup>	16,2%	67,6% <sup>a</sup>
T	5,3% <sup>a</sup>	0,0%		15,8% <sup>a</sup>	5,3%		44,7% <sup>a</sup>	26,3%		7,9% <sup>a</sup>	10,5%	73,7% <sup>a</sup>
NS	2,6% <sup>a</sup>	2,6%		7,9% <sup>a</sup>	10,5%		55,3% <sup>a</sup>	31,6%		2,6% <sup>a</sup>	15,8%	68,4% <sup>a</sup>
S	5,4% <sup>a</sup>	5,4%		13,5% <sup>a</sup>	5,4%		40,5% <sup>a</sup>	27,0%		13,5% <sup>a</sup>	10,8%	73,0% <sup>a</sup>

a = a, para  $p > 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

a ≠ b, para  $p < 0,05$  (entre linhas, grupos diferentes)

**Quadro 9.** Taxa de fertilidade e taxa de prolificidade das cabras dos diferentes grupos.

Grupo	C	T	NS	S
<b>Fertilidade</b>	37,8% <sup>a</sup>	52,6% <sup>a</sup>	56,8% <sup>a</sup>	34,2% <sup>b</sup>
<b>Prolificidade</b>	175,0% <sup>a</sup>	157,1% <sup>a</sup>	176,9% <sup>a</sup>	123,8% <sup>b</sup>

a = a, para  $p > 0,05$  (entre colunas, grupos diferentes)

a ≠ b, para  $p < 0,05$  (entre colunas, grupos diferentes)



## V. Discussão

A função reprodutiva é uma das primeiras a ser afectada pelas situações de desequilíbrio nutricional, que resultam, em primeiro lugar, de uma falha no ajuste do balanço entre a disponibilidade de nutrientes e as suas necessidades, tanto por animais em reprodução como por animais a iniciar a vida reprodutiva. Os lípidos são o nutriente mais importante na relação entre nutrição e a reprodução dos pequenos ruminantes, embora a proteína e outros nutrientes específicos, tais como minerais e vitaminas, sejam também essenciais ao processo reprodutivo desses animais (Cezar e Sousa, 2006). Apesar do início do ensaio ter decorrido na época de menor disponibilidade natural de alimento, a condição corporal das cabras aumentou significativamente nos grupos C ( $p < 0,05$ ) e T ( $p < 0,05$ ). No entanto, tanto no início como no fim do ensaio não se verificaram diferenças significativas entre grupos ( $p > 0,05$ ). Zarazaga et al. (2011) observaram a mesma variação na condição corporal durante o período de ensaio e não verificaram qualquer diferença entre os grupos tratado com luz artificial e não tratado ( $p > 0,05$ ). Seria de esperar que houvesse diferença entre o grupo C e T, pois o último estava sujeito a mais horas de luz por dia, o que supostamente levaria a um aumento da ingestão de alimento por parte dos animais deste grupo. Ao contrário do que era espectável, a mesma situação ocorreu nos grupos NS e S, pois este último, por ter sido sujeito a uma suplementação, deveria ter uma diferença significativa quando comparado com o grupo NS. O facto de não haver diferenças entre grupos pode dever-se ao facto de haver, durante a Primavera, abundância de pastagem natural nas imediações das instalações onde decorreu o ensaio e ao facto das cabras serem animais que incluem, em grande parte, na sua dieta os recursos alimentares arbustivos (*browsing*). É também possível que os 14 dias de suplementação não sejam suficientes para haver diferenças significativas, pois, por se tratar de um animal selectivo do ponto de vista alimentar, a cabra necessita de um período de adaptação mais longo.

No decorrer do presente trabalho, 85,7% do total das cabras aumentaram ou mantiveram a sua condição corporal e 14,3% diminuíram a condição corporal, não apresentando diferenças significativas entre grupos ( $p > 0,05$ ). A proporção de cabras gestantes que aumentaram ou mantiveram a sua condição corporal não diferiu entre grupos ( $p > 0,05$ ), verificando-se a mesma relação relativamente às cabras que diminuíram a condição corporal ( $p > 0,05$ ). Estes resultados não vão ao encontro aos apresentados por Gunn e Maxwell (1978), Santucci et al. (1991; citado por Cezar e Sousa, 2006) e Mascarenhas (2006), que, ao comparar os dois perfis de mudanças de condição corporal (diminuir e manter ou aumentar a condição corporal), verificaram que os animais que aumentam ou mantêm a sua condição corporal apresentam maior número de montas, maior

taxa de fertilidade, maior índice de prolificidade e menor intervalo entre partos do que aqueles que diminuem a condição corporal.

O presente trabalho deixou claro que o estro e a ovulação podem ser induzidos por métodos considerados naturais durante o tradicional período de anestro. A proporção diária e cumulativa de cabras que apresentaram comportamento típico do estro durante os 14 dias posteriores à introdução do macho demonstram uma concentração do aparecimento de estros, em todos os grupos ( $p>0,05$ ), entre o dia 7 e o dia 8 após a introdução dos machos, onde cerca de 75% do total das cabras (percentagem cumulativa) apresentam o primeiro estro. As percentagens, tanto diária como cumulativa, de cabras que manifestaram comportamento típico do estro não foram diferentes entre os grupos C e T ( $p>0,05$ ) e entre os grupos NS e S ( $p>0,05$ ). Os resultados relativos aos grupos C e T são suportados por Mascarenhas et al. (2010), que verificaram que, após a introdução dos machos, a maioria das cabras apresentava o 1º estro entre os dias 7 e 8, tanto no grupo sujeito ao tratamento luminoso artificial como no grupo controlo. Estes resultados repetem-se também em outros estudos (Walken-Brown et al., 1993 citado por Horta e Gonçalves, 2006; Pellicer-Rubio et al., 2007; Pellicer-Rubio et al., 2008). Pelo contrário, Zarazaga et al. (2011) verificaram uma maior proporção de fêmeas a exibir estro no grupo tratado com luz artificial do que no grupo não tratado ( $p<0,05$ ). No que diz respeito aos resultados apresentados pelos grupos NS e S, estes são confirmados por Fitz-Rodríguez et al. (2009), que observaram uma concentração de estros semelhante aos do presente estudo em ambos os grupos, suplementado e não suplementado, não havendo diferenças entre os mesmos ( $p>0,05$ ). No entanto, tanto os nossos resultados como os de Fitz-Rodríguez et al. (2009), diferem ligeiramente dos apresentados por Santiago-Miramontes et al. (2008), que verificaram diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre os grupos suplementado e não suplementado quanto à proporção de cabras exibindo comportamento característico do estro nos primeiros cinco dias que seguiram a introdução dos machos no rebanho. A proporção cumulativa de fêmeas em estro foi também maior no grupo suplementado durante os primeiros nove dias em que as fêmeas estiveram expostas ao macho ( $p<0,05$ ).

No presente trabalho, verificou-se também uma variação na frequência de cabras marcadas, pois 8% das cabras foram marcadas entre o dia 0 e o dia 5 após a introdução dos machos, 57,3% das cabras foram marcadas entre o dia 6 e o dia 14 e 18,7% das cabras foram marcadas tanto entre o dia 0 e o dia 5 como entre o dia 6 e o dia 14, não se verificando, em nenhum dos intervalos (D0-D5; D6-D14; D0-D5 e D6-D14), diferenças significativas entre os grupos C e T ( $p>0,05$ ) e entre os grupos NS e S ( $p>0,05$ ). Os dados referentes aos grupos C e T estão de acordo com Mascarenhas et al. (2010), onde a maior concentração de cabras marcadas se encontra entre os dias 6 e 10. No entanto,

Mascarenhas et al. (2010) verificaram uma diferença ( $p < 0,05$ ) entre o grupo sujeito ao tratamento luminoso artificial e o grupo controle nas cabras marcadas duas vezes durante os 10 dias que seguiram a introdução dos machos (D0-D5 e D6-D10). Os resultados relativos aos grupos NS e S vão ao encontro aos verificados por Fitz-Rodríguez et al. (2009), que não encontraram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os grupos suplementado e não suplementado, observando a mesma tendência encontrada no presente estudo.

O intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro das cabras foi igual entre os grupos C e T ( $6,1 \pm 3,1$  dias vs  $6,1 \pm 3,1$  dias) e, por conseguinte, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os mesmos ( $p > 0,05$ ). No que diz respeito aos grupos NS e S, o intervalo foi significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) no grupo S ( $5,7 \pm 3,0$  dias vs  $6,5 \pm 3,1$  dias). Estes dados são ligeiramente superiores aos observados por Fitz-Rodríguez et al. (2009), que verificaram que o intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico do estro das cabras foi de  $2,7 \pm 0,2$  dias no grupo não suplementado e de  $2,5 \pm 0,6$  dias no grupo suplementado, não verificando, assim como no presente trabalho, diferenças significativas entre grupos ( $p > 0,05$ ). Os dados do presente estudo também são ligeiramente superiores aos observados por Lebeouf (2001; citado por Mascarenhas, 2006), que verificou que a introdução repentina dos machos no rebanho, após uma separação prévia e completa de dois ou três meses, provoca o aparecimento de ovulações sincronizadas em média nos 2,5 dias que se seguem. No entanto, os nossos resultados estão inseridos no intervalo determinado por Hafez e Hafez (2000), que estabeleceram que os ciclos curtos têm uma duração de 4 a 15 dias, e são semelhantes aos determinados por Simões et al. (2005), em que os ciclos curtos apresentados pelas cabras tiveram uma duração de cerca de 7 dias. A proporção de fêmeas a exibir estros com ciclos curtos foi superior no grupo T em relação ao grupo C (21,1% vs 16,2%) e ligeiramente superior no grupo S relativamente ao grupo NS (18,9% vs 18,4%), não sendo, no entanto, nenhuma das diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). Estes dados estão de acordo com Fitz-Rodríguez et al. (2009), que verificaram não haver diferenças significativas entre o grupo suplementado e o grupo não suplementado ( $p > 0,05$ ), apesar da relação entre os grupos ser contrária à do presente estudo, isto é, maior proporção de fêmeas a exibir estros com ciclos curtos no grupo não suplementado do que no grupo suplementado (43% vs 39%). Os referidos dados também vão ao encontro ao estudo realizado por Zarazaga et al. (2011), que verificaram um maior número de cabras exibindo estros com ciclos curtos no grupo sujeito ao tratamento luminoso artificial. A duração de estros com ciclos curtos foi menor no grupo T em comparação com o grupo C ( $4,3 \pm 1,0$  dias vs  $5,5 \pm 2,7$  dias), ocorrendo o mesmo em relação aos grupos S e NS ( $3,7 \pm 1,3$  dias vs  $5,9 \pm 2,0$  dias). No entanto, estas diferenças entre grupos só foram estatisticamente

significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos NS e S. À semelhança dos dados referentes à proporção de fêmeas a exibir estros com ciclos curtos, os resultados relativos à duração de estros com ciclos curtos estão de acordo com Fitz-Rodríguez et al. (2009), que observaram que não há diferenças entre os grupos suplementado e não suplementado ( $p > 0,05$ ).

O facto de não terem sido verificadas diferenças significativas entre os grupos que compuseram o ensaio leva-nos a concluir que, na raça Serrana, não é necessário haver um tratamento prévio de dias longos para que o efeito macho seja eficaz. Isto deve-se, provavelmente, ao facto desta raça não apresentar um anestro sazonal tão profundo que justifique a utilização do tratamento fotoperiódico. Outro factor que contribui para que as diferenças não sejam estatisticamente significativas é a duração do período de suplementação, que pode não ser suficientemente longo para haver um impacto nos parâmetros reprodutivos. Relativamente ao intervalo entre a introdução dos machos e o início do comportamento característico sexual caracterizado pela detecção e registo bi-diário do estro das cabras, a suplementação parece ter influenciado este parâmetro, pois no grupo suplementado o intervalo foi inferior ( $p < 0,05$ ) ao do grupo não suplementado. Neste trabalho verificou-se que o efeito macho permite antecipar o início da estação reprodutiva cerca de 85 dias, uma vez que a maioria das cabras manifestaram estro 9 dias após a introdução dos machos (26 de Maio). De outro modo, o início da actividade reprodutiva verificar-se-ia a partir da segunda quinzena de Setembro, tal como observado por Simões *et al.* (2005; citado por Mascarenhas, 2006), num estudo efectuado em cabras Serranas Transmontanas, em que a inactividade ovárica foi determinada em 76,4% dos animais na primeira quinzena de Setembro e que todas as fêmeas só iniciaram a actividade reprodutiva na segunda quinzena de Setembro.

Apesar de no presente trabalho não ter sido possível realizar as análises que permitiriam elaborar o perfil das principais hormonas sexuais envolvidas na actividade ovárica, progesterona e LH, crê-se que este perfil seria análogo ao relatado por Fitz-Rodríguez et al. (2009), por Mascarenhas et al. (2010) e por Zarazaga et al. (2011) devido à semelhança entre os protocolos. Os dados recolhidos por Mascarenhas et al. (2010) referem que, antes da introdução dos machos, a concentração de progesterona encontrava-se a níveis basais tanto no grupo não tratado com luz artificial como no grupo sujeito ao tratamento luminoso artificial ( $p > 0,05$ ). Pelo contrário, Zarazaga et al. (2011) verificaram que no grupo tratado com luz artificial os níveis de progesterona mantiveram-se a um nível basal e no grupo não tratado as concentrações de progesterona permaneceram num nível ligeiramente superior. No quinto dia após a introdução dos machos, Zarazaga et al. (2011) observaram um aumento na concentração de progesterona que durou cerca de 2-3 dias, em animais de ambos os grupos ( $p > 0,05$ ). Mascarenhas et al. (2010) de igual modo verificaram

um aumento significativo da concentração de LH em ambos os grupos no dia 7 (168 horas) após a introdução dos machos. Ao observar as concentrações de LH, obtidas através da recolha de amostras de 4 em 4 horas entre os dias 5 e 9 após a introdução dos machos, e as concentrações de progesterona, obtidas através da recolha diária de amostras durante o mesmo período, Mascarenhas et al. (2010) verificaram que a concentração de LH só começou a aumentar aquando da redução da concentração de progesterona aos níveis basais, não havendo diferenças significativas entre grupos ( $p>0,05$ ). Fitz-Rodríguez et al. (2009) observaram que a segunda ovulação induzida pelo macho ocorreu entre os dias 6 e 14 após a introdução dos machos e verificaram que a taxa de ovulação foi maior ( $p<0,05$ ) no grupo suplementado do que no grupo não suplementado, mas não diferiu ( $p>0,05$ ) durante os primeiros 5 dias após a introdução dos machos. Nos primeiros 5 dias após a introdução dos machos, a proporção de cabras não suplementadas que ovularam foi maior ( $p<0,05$ ) que no grupo suplementado. Pelo contrário, entre os dias 6 e 14 após a introdução dos machos, a proporção de cabras que ovularam não foi afectada pela suplementação nutricional ( $p>0,05$ ).

No presente trabalho, verificou-se que no grupo C a proporção de cabras gestantes foi de 67,6% enquanto que no grupo T esta proporção foi de 73,7%, não sendo as diferenças significativas ( $p>0,05$ ). No grupo NS a proporção de cabras gestantes foi de 68,4% e no grupo S esta proporção foi de 73,0%, não diferindo ( $p>0,05$ ). Em todos os grupos a proporção de cabras gestantes é maior em cabras que apresentam estros com ciclos curtos (D0-D5 e D6-D14), seguida das cabras que exibem estro após o dia 5 (D6-D14) e, finalmente, das cabras que manifestam estro nos primeiros 5 dias após a introdução dos machos (D0-D5). Todavia, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre grupos neste caso ( $p>0,05$ ). Estes dados estão de acordo com os de Fitz-Rodríguez et al. (2009), que não verificaram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo suplementado e o grupo não suplementado no que toca à proporção de cabras gestantes ( $p>0,05$ ), e com os Mascarenhas et al. (2010), que observaram não haver diferenças significativas entre o grupo controlo e o grupo sujeito ao tratamento luminoso artificial ( $p>0,05$ ) quanto à proporção de cabras gestantes. No caso da proporção de cabras gestantes, a diferença não foi significativa pois alguns animais não apresentavam uma condição corporal que assegurasse a continuidade da gestação, o que se deve provavelmente ao facto da duração suplementação nutricional não ter sido suficiente para alterar a condição corporal de uma forma significativa. Fitz-Rodríguez et al. (2009) concluíram que uma suplementação de 14 ou 28 dias, iniciadas 9 dias após a introdução dos machos, aumenta a proporção de cabras gestantes aos 45 dias. Como o padrão do comportamento característico do estro foi igual entre os grupos suplementado e não

suplementado, poder-se-á inferir que o aumento da taxa de gestação foi um efeito directo da suplementação realizada por volta da altura da implantação do embrião. Esta suplementação teve uma influência positiva no ambiente uterino, permitindo uma melhoria significativa na implantação e desenvolvimento do embrião. Estudos efectuados com cabras em que foi realizado o efeito macho demonstraram índices de fertilidade e prolificidade menores em cabras sub-nutridas (Mellado et al., 1996; Fitz-Rodríguez et al., 2004 citado por Fitz-Rodríguez et al., 2009), que poderá ser atribuído à ocorrência de menores taxas de ovulação e maiores taxas de mortalidade embrionária (Henniawati e Fletcher, 1986; Mani et al., 1992; Abecia et al., 2006 citado por Fitz-Rodríguez et al., 2009).

A fertilidade ao parto das cabras que participaram no ensaio foi de 37,8% no grupo C e de 52,6% no grupo T, não sendo as diferenças significativas ( $p>0,05$ ). No grupo NS a fertilidade foi significativamente superior ( $p<0,05$ ) ao grupo S, designadamente 56,8% versus 34,2%. Estes resultados revelaram que a suplementação não contribuiu para o aumento da fertilidade, todavia não podemos afirmar que a variação significativa da fertilidade possa ser atribuída exclusivamente ao suplemento alimentar que foi administrado durante 14 dias. A diminuição dos valores da fertilidade face aos valores da taxa de gestação poderá ser devida a perdas embrionárias, cujas causas não foi possível determinar no decorrer deste trabalho. A prolificidade, foi significativamente superior ( $p<0,05$ ) no grupo NS comparativamente ao grupo S (176,9% vs 123,8%), não diferindo ( $p>0,05$ ) entre os grupos C e T (175,0% vs 157,1%). De igual modo, não poderemos afirmar que a suplementação tenha um efeito negativo na prolificidade, pois outros factores não-identificados poderão ter participado.

Comparativamente a trabalhos anteriormente realizados verificamos que os tratamentos que incluíram a utilização de hormonas administradas por via exógena permitiram a obtenção de índices reprodutivos mais elevados. Mascarenhas e Barbas (2005), verificaram que a fertilidade e prolificidade em cabras tratadas com o protocolo habitual de indução e sincronização do estro utilizando esponjas intravaginais de FGA (20 mg de acetato de fluorogestona), 500 UI de eCG e PGF<sub>2α</sub> (75 µg de cloprostenol) foram 52% e 192%, respectivamente. Azevedo et al. (2002) observaram com a administração em cabras de um tratamento para induzir e sincronizar o estro incluindo melatonina, eCG e PGF<sub>2α</sub>, uma taxa de fertilidade de 88,9% e uma taxa de prolificidade de 190% comparativamente a 75% e 140% quando as cabras foram sincronizadas com o tratamento habitual sem a administração de melatonina. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Leboeuf et al. (2003) com fertilidades e prolificidades de 70,4% e 180%, respectivamente.

## **VI. Conclusão**

A realização do presente trabalho permitiu-nos concluir que a implementação de um período de três meses de tratamento luminoso artificial não influenciou de forma significativa a resposta ao efeito macho, que, por si só, é capaz de provocar o aparecimento de estros férteis fora da estação reprodutiva normal. A suplementação nutricional durante um período de 14 dias, designadamente, 7 dias antes até 7 dias depois da introdução dos machos não teve um efeito positivo sobre a eficiência reprodutiva, nem em qualquer dos parâmetros avaliados, sugerindo que o período de suplementação alimentar seja aumentado, particularmente após a introdução dos machos.

Os resultados obtidos no presente trabalho, designadamente a sincronização do estro comparativamente aos métodos usualmente empregados nos programas de reprodução envolvendo a utilização de hormonas, não permitem recomendar a sua utilização imediata em programas de IA a tempo fixo. Será necessário o desenvolvimento de novos estudos e a implementação de metodologias sem a utilização de hormonas exógenas que acabam com o risco de contaminação de produtos de origem animal e do meio ambiente.

## VII. Referências bibliográficas

ABECIA J.A., Sosa C., Forcada F., Meikle A., 2006. *The effect of undernutrition on the establishment of pregnancy in the ewe*. Reprod. Nutr. Dev. 46:367–378. Citado por Fitz-Rodríguez G., Santiago-Miramontes M.A., Scaramuzzi R.J., Malpaux B., Delgadillo J.A., 2009. *Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect*. Journal of Animal Reproduction Science, 116:85-94.

ARTHUR G.H., Noakes D.E., Pearson H., Parkinson T.J., 1996. *Veterinary Reproduction & Obstetrics*. 7<sup>th</sup> Edition. WB Saunders. London. 3-48 pp. Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1<sup>a</sup> edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

AZEVEDO J.M., Correia T.M., Almeida J.C., Valentim R.C., Fontes P., Coelho A., 2002. *Interrupção do anestro sazonal em cabras da raça Serra, ecótipo Transmontano, recorrendo a tratamentos hormonais*. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 97:135-138.

BARIL G., Brebion P., Chesné P., 1995. *Manual de formación práctica para el tranplante de embriões en ovelas y cabras*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Itália. 4-6 pp. Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1<sup>a</sup> edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

BLACHE D., Martin G.B., 2009. *Focus feeding to improve reproductive performance in male and female sheep and goats - how it works and strategies for using it*. Institute of Agriculture, Faculty of Natural & Agricultural Sciences, University of Western Australia, Australia

Disponível na WWW:

URL: <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a85/00801028.pdf>

BONO G., Cairolì F., Tamanini C., Abrate L., 1983. *Progesterone, estrogen, LH, FSH and PRL concentrations in plasma during oestrus cycle in goat*. Reprod. Nutr. Dévelop., 23:217-222.[Abstract]



CEZAR M.F., Sousa W.H., 2006. *Avaliação e utilização da condição corporal como ferramenta de melhoria da reprodução e produção de ovinos e caprinos de corte*. Anais de Simpósios da 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.

CHEMINEAU P., 1983. *Effect on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year*. J. Reprod. Fertil., 67: 65-72.

CHEMINEAU P., 1989. *L'effect bouc: mode d'action et efficacité pour estimer la reproduction des chèvres en anoestrus*. INRA Prod. Anim., v.2, p.97-104.

CHEMINEAU P., Cognié Y., Guérin Y., Orgeur P., Vallet J.C., 1991. *Training manual on artificial insemination in sheep and goats*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 222 pp.

CHEMINEAU P., Daveau A., Maurice F., Delgadillo J.A., 1992. *Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod*. Small Ruminants Research, 8:299-312. Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1ª edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

CHEMINEAU P., Delgadillo J.A., 1994. *Neuroendocrinologie de la reproduction chez la caprins*. INRA Prod. Anim., 7:315-326.

CHEMINEAU P., Gauthier D., Poirier J.C., Saumande J., 1982. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17 beta and progesterone during natural induced oestrus in the dairy goat. Theriogenology, 17:313-323. [Abstract]

CHEMINEAU P., Malpoux B., 1998. *Melatonin and reproduction in domestic farm animals*. Therapie, 53:445-452. [Abstract]

CHEMINEAU P., Malpoux J., Pelletier J., Leboeuf B., Delgadillo J.A., Deletang F., Pobel T., Brice G., 1996. *Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnières chez les ovins et les caprins*. INRA Prod. Anim., v.9, p.45-60.

CHEMINEAU P., Martin G.B., Saumande J., Normant E., 1988. *Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (Capra hircus)*. J. Reprod. Fertil., 83:91-98.

CLARKE I.J., 1995. *The Preovulatory LH Surge*. Trends Endocrinol. Metabol., 6:241-247. Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1ª edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

COOKE R.G., Ahmad N., Nicholson T., 1998. *Effect of progesterone and estradiol-17 on oxytocin-induced PGF<sub>2α</sub> release and endometrial oxytocin receptor concentrations in ovariectomized goats*. Prostaglandin and other Lipid Mediators, 55:109-120. [Abstract]

CORTEEL J.M., 1985. Maitrise de la reproduction des caprins à vocation laitière à des fins économiques. 1<sup>er</sup> Coll. Intern. Reprod. des Caprins. CEEPAS de Drumondville, Québec, Canada. 45-68. Citado por Azevedo P., Baptista M.C., Simões Nunes A., Mascarenhas R., 1993. *Indução da Ovulação e Inseminação Artificial em Caprinos no Início da Época de Reprodução*. 5º Simpósio Internacional de Reprodução Animal. Sociedade Portuguesa de Reprodução Animal. Luso, 30 de Setembro a 2 de Outubro de 1993. Vol. II, 231-239, 1993.

DE CASTRO T., Rubianes E., Menchaca A., Rivero A., 1999. *Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats*. Theriogenology, 52:399-411. [Abstract]

DELGADILLO J.A., Malpoux B., Chemineau P., 1997. *La reproduction des caprins dans les zones tropicales et subtropicales*. INRA Prod. Anim., 10:33-41.

DISKIN M.G., Austin E.J., Roche J.F., 2002. *Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle*. Domestic Animal Endocrinology, 23:211-228. [Abstract]

EBLING, F.J.P., Hasting M.H., 1992. *The neural basis of seasonal reproduction*. Ann. Zootech., 41:239-246. [Abstract]

EVANS A. C. O., Duffy P., Crosby T. F., Hawken P. A. R., Boland M. P., Beard, A. P., 2004. *Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronisation and fertility during the breeding season in ewes*. Animal Reproduction Science, 84: 349-358. [Abstract]

EVANS A.C.O., 2003. *Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals*. Reprod. Domest. Anim., 38:240-246.

EVANS G., Maxwell W.M.C., 1990. Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras. 1ª edición. Acribia S.A.. Argentina.

FATET A., Pellicer-Rubio M.T., Leboeuf B., 2010. *Reproductive cycle of goats*. Animal Reproduction Science, *in press*. doi:10.1016/j.anireprosci.2010.08.029

FIGUEREDO M.M.N., Fonseca F.A, Torres C.A.A., Galimbert A.M., Almeida, C.A., 2000. Dinâmica folicular ovariana de vacas leiteiras nos pós-partos após tratamentos com buserilina (GnRH) e cloraprostenol (PGF2 $\alpha$ ). Revista brasileira de zootécnica v.29, p.725-731.

FITZ-RODRÍGUEZ G., 2004. *Estimulación de la actividad reproductiva en cabras Criollas mantenidas en condiciones extensivas usando el efecto macho*. MSc. Thesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Torreón, Coahuila, México. Citado por Fitz-Rodríguez G., Santiago-Miramontes M.A., Scaramuzzi R.J., Malpaux B., Delgadillo J.A., 2009. *Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect*. Journal of Animal Reproduction Science, 116:85-94.

FITZ-RODRÍGUEZ G., Santiago-Miramontes M.A., Scaramuzzi R.J., Malpaux B., Delgadillo J.A., 2009. *Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect*. Journal of Animal Reproduction Science, 116:85-94.

FORTUNE J. E., Rivera G. M., Yang M. Y., 2004. *Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle*. Animal Reproduction Science, 2004, v. 82-83, p.109-126. [Abstract]

GEBBIE F.E., Forsyth I.A., Arendt J., 1999. *Effects of maintaining solstice light and temperature on reproductive activity, coat growth, plasma prolactin and melatonin in goats*. J. Reprod. Fertil., 116:25-35.

GELEZ H., Fabre-Nys C., 2004. *The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems*. Hormones and Behavior, 46:257-271.

GHOREISHI S.M., Zamiri M.J., Rowghani E., 2007. *Effect of a calcium soap of fatty acids on reproductive characteristics and lactation performance of fat-tailed sheep*. Pakistan Journal of Biological Sciences, v.10, p.2389-2395.

GINTHER O.J., Kot K., 1994. *Follicular dynamics during the ovulatory season in goats*. Theriogenology, 42:987-1001. [Abstract]

GINTHER O. J., Wiltbank M. C., Fricke P. M., 1996. *Selection of the dominant follicle in cattle*. Biology of Reproduction, v. 55, p.1187-1194.

GONZÁLEZ F., Batista M., Cabrera F., Calero P., Alabart J.L., Gracia A., 2001. Local effect of the corpus luteum on ovarian follicular functional and morphological features in the goat. Reprod. Domest. Anim., 36:147-151.

GORDON I., 2004. *Reproductive Technologies in Farm Animals*. Cabi Publishing. Oxfordshire, UK. 332 pp.

GUNN R. G., Maxwell T. J., 1978. *The effects of direction of livewieght change about mating on lamb production in Greyface ewes*. Animal production, 26:392 (Abstract).

HAFEZ B., Hafez E.S.E., 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7<sup>th</sup> Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, USA. 509 pp.

HENNIAWATI, Fletcher I.C., 1986. *Reproduction in Indonesian sheep and goats at two levels of nutrition*. Anim. Reprod. Sci. 12:77–84. [Abstract]

HERVIEU J., Morand-Fehr P. (1999). Comment noter l'état corporel des chèvres. Réussir La chèvre , 231-263.

HORTA A.E.M., Gonçalves S.C., 2006. *Bioestimulação pelo efeito macho na indução e sincronização da actividade ovárica em pequenos ruminantes*. XVI Congresso de Zootecnia. Castelo Branco.

KANAI Y., Ishikawa N., 1988. Pulsatile secretion of luteinizing hormone and plasma levels of ovarian steroids during the estrous cycle in the Shiba goat. Jpn. J. Anim. Reprod., 34:105-110. Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1<sup>a</sup> edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

KAWATE N., Morita N., Tsuji M., Tamada H., Inaba T., Sawada T., 2000. *Roles of pulsatile release of LH in the development and maintenance of corpus luteum function in the goat*. Theriogenology, 54:1133-1143. [Abstract]

LEBOEUF B., Forgerit Y., Bernelas D., Pougard J.L., Senty E., Driancourt M.A., 2003. *Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa*. Theriogenology, 60:1371-1378.

LOUREIRO M.F.P., 2003. *Indução do estro por implante de melatonina em ovinos da raça Suffolk*. Dissertação Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga. Citado por Traldi A.S., Loureiro M.F.P., Capezzuto A., Mazorra A.L., 2007. *Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 31, n. 2, p. 254-260. Belo Horizonte.

MALPAUX, B., Migaud M., Tricoire H., Chemineau P., 2001. *Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin*. J. Biol. Rhythms, 16:336-347. [Abstract]

MANI A.U., McKelvey W.A.C., Watson E.D., 1992. *The effects of low level of feeding on response to synchronization of estrus, ovulation rate and embryo loss in goats*. Theriogenology 38, 1013–1022. [Abstract]

MARTIN G.B., Rodger J., Blache D., 2004. *Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants*. Reprod. Fert. Dev., v.16, p.491-501. [Abstract]

MARTIN G.M., Olgham C.M., Cognié Y., Pearce D.T., 1986. *The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams – a review*. Live Prod. Sci., 15, 219-247. [Abstract]

MASCARENHAS R., 2006. *Melhoramento da eficiência reprodutiva em caprinos de raças nacionais*. Estação Zootécnica Nacional, Vale de Santarém.

Disponível na WWW:

URL: <http://www.ancras.pt/pdf/3-1%20Ramiro%20Mascarenhas.pdf>

MASCARENHAS R., Barbas J.P., 2005. *Efeito das doses de eCG e de PGF2a usadas na sincronização do estro sobre a eficiência da inseminação artificial. [Effect of eCG and PGF2a doses used in the synchronization of oestrus on the efficiency of artificial insemination in goats]*. Ciências Veterinárias, 3º Congresso da SPCV 2005, Livro de Resumos, p. 116 (abstract).

MASCARENHAS R., Gonçalves S.C., Barbas J.P., Batista M.C., Cunha T., Pereira F., 2010. Effect of photoperiodic treatments on the response to the male effect in Saanen, Serrana and Sarda goats. FLOCK-REPROD project – Deliverable 1.2

MASCARENHAS R.D., 1988. *Alguns caracteres reprodutivos da cabra Serrana: Idade à puberdade, actividade sexual sazonal e controle hormonal da reprodução*. II Jornadas de Caprinicultura, XXI Reunião da Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia, Castelo Branco.

MEDAN M.S., Watanabe G., Sasaki K., Nagura Y., Sakai H., Fujita M., Sharawy S., Taya K., 2003a. *Effects of passive immunization of goats against inhibin on follicular development, hormone profile and ovulation rate*. Reproduction, 125:751-757.

MEDAN M.S., Watanabe G., Sasaki K., Nagura Y., Sakai H., Fujita M., Sharawy S., Taya K., 2003b. *Ovarian and hormonal response of female goats to active immunization against inhibin*. Journal of Endocrinology, 177:287-294.

MEDAN M.S., Watanabe G., Sasaki K., Sharawy S., Groome N.P., Taya K., 2003c. *Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids and inhibin during the estrous cycle in goats*. Biol. Reprod., 69:57-63.

MEIDAN R., Milvae R.A., Weiss S., Levy N., Friedman A., 2000. *Intraovarian regulation of luteolysis*. J. Reprod. Fertil. (Suppl.), 54:217-228.

MELLADO M., Cantú L., Suárez J.E., 1996. *Effects of body condition, length of breeding period, buck:doe ratio, and month of breeding on kidding rates in goats under extensive conditions in arid zones of Mexico*. Small Rumin. Res. 23, 29–35. [Abstract]

MENCHACA A., Rubianes E., 2002. *Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats*. Theriogenology, 57:1411-1419.

MORAES J. C. F., SOUZA C. J. H., GONSALVES P. B. D., 2001. *Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos*. In: GONSALVES P. B. D., FIGUEIREDO J. R., FREITAS V. J. F., 2001. *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal*, São Paulo: Livraria Varela. cap. 3, p. 25-55. Citado por Martins A.C., 2005. *Dinâmica folicular em bovinos*. “Seminário em Reprodução Animal I” do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Reprodução Animal, Curso de Mestrado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Câmpus de Botucatu. 15 pp.

MORI Y., Maeda K., Sawasaki T., Kano Y., 1985. *Photoperiodic control of prolactin secretion in goats*. Jpn. J. Anim. Reprod., 31:9-15. Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1ª edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

OUIN S., 1997. *Désaisonnement lumineux : une méthode empirique mais efficace*. La chèvre, v.221, p.32-33. Citado por Traldi A.S., Loureiro M.F.P., Capezzuto A., Mazorra A.L., 2007. *Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 31, n. 2, p. 254-260. Belo Horizonte.

PADILLA G., Holtz W., 2000. *Follicular dynamics during the estrous cycle in goats*. Reprod. Dom. Anim., 35:31 (abstract). Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1ª edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

PARVIZI N., 2000. Neuroendocrine regulation of gonadotropins in the male and the female. *Journal of Animal Reproduction Science*, 60-61:31-47. [Abstract]

PELLICER-RUBIO M.T., Leboeuf B., Bernelas D., Forgerit Y., Pougnaud J.L., Bonné J.L., Senty E., Chemineau P., 2007. *Highly synchronous and fertile reproductive activity induced by the male effect during deep anoestrus in lactating goats subjected to treatment with artificially long days followed by a natural photoperiod*. *Journal of Animal Reproduction Science*, 98:241-258.

PELLICER-RUBIO M.T., Leboeuf B., Bernelas D., Forgerit Y., Pougnaud J.L., Bonné J.L., Senty E., Breton S., Brun F., Chemineau P., 2008. *High fertility using artificial insemination during deep anoestrus after induction and synchronization of ovulatory activity by the “male effect” in lactating goats subjected to treatment with artificial long days and progestagens*. *Journal of Animal Reproduction Science*, 109:172-188.

RESTALL B.J., 1992. *Seasonal variation in reproductive activity in Australian goats*. Animal Reproduction Science 27, 305–318. [Abstract]

ROBINSON T.J., 1967. *The control of ovarian cycle in the sheep*. Sydney: Sydney University Press. 258 p. Citado por Traldi A.S., Loureiro M.F.P., Capezzuto A., Mazorra A.L., 2007. *Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 31, n. 2, p. 254-260. Belo Horizonte.

ROSA H.J.D., Bryant M.J., 2002. *The “ram effect” as a way of modifying the reproductive activity in the ewe*. Small Ruminant Research, 45: 1-16.

ROY F., Maurel M.C., Combes B., Vaiman D., Cribiu E.P., Lantier I., Pobel T., Del’etang F., Combarnous Y., Guillou F., 1999. *The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex*. Biol. Reprod. 60, 805–813.

SANGHA G.K., Sharma R.K., Guraya S.S., 2002. *Biology of corpus luteum in small ruminants*. Small Rum. Res., 43:53-64. [Abstract]

SANTIAGO-MIRAMONTES M.A., Rivas-Muñoz R., Muñoz-Gutiérrez, Malpaux B., Scaramuzzi, Delgadillo J.A., 2008. *The ovulation rate in anoestrus female goats managed under grazing conditions and exposed to the male effect is increased by nutritional supplementation*. Journal of Animal Reproduction Science, 105:409-416.

SANTOS J.E.P., Bilby T.R., Thatcher W.W., Staples C.R., Silvestre F.T., 2008. *Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle*. Reproduction in Domestic Animals, v.43, p.23-30.

SANTUCCI P. M., Branca A., Napoleone M., Buche R., Aumont G., Poisot F., Alexandre G., 1991. *Body condition scoring of goats in extensive conditions*. In: *Goat nutrition*. Ed. Morand-Fehr. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, p.240-255. Citado por Cezar M.F., Sousa W.H., 2006. *Avaliação e utilização da condição corporal como ferramenta de melhoria da reprodução e produção de ovinos e caprinos de corte*. Anais de Simpósios da 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.

SCARAMUZZI R.J., Adams N.R., Baird D.T., Campbell B.K., Downing J.A., Findlay J.K., Henderson K.M., Martin G.B., McNatty K.P., McNeilly A.S., Tsonis C.G., 1993. *A model for*



*follicle selection and the determination of ovulation rate in ewe*. Reprod. Fertil. Dev., 5:459-478. [Abstract]

SCARAMUZZI R.J., Campbell B.K., Downing J.A., Kendall N.R., Khalid M., Muñoz-Gutiérrez M., Somchit A., 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. Reprod. Nutr. Dev. 46 (2006) 339–354.

SCHATTEN H., Constantinescu G., 2007. Comparative Reproductive Biology. 1<sup>st</sup> Edition. Blackwell Publishing. Iowa, USA. 402 pp.

SCHWARZ T., Wierzchos E., 2000. Relationship between FSH and ovarian follicular dynamics in goats during the oestrus cycle. Theriogenology, 53:381 (abstract). Citado por Simões J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1ª edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

SHELTON M., 1980. *Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of oestrus and ovulation*. Int. Goat Sheep Res., v.1, p.156-62. Citado por Traldi A.S., Loureiro M.F.P., Capezzuto A., Mazorra A.L., 2007. *Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 31, n. 2, p. 254-260. Belo Horizonte.

SIMÕES J., Almeida J.C., Paula R., Valentim R., Azevedo J., Mascarenhas R., 2005. *Actividade ovárica na cabra da raça Serrana em 2 períodos distintos durante o ano*. Congresso de Ciências Veterinárias, SPCV. Estação Zootécnica Nacional, Vale de Santarém.

SIMÕES J., Almeida J.C., Valentim R., Baril G., Azevedo J., Fontes P., Mascarenhas R., 2006. *Follicular Dynamics in Serrana goats*. Journal of Animal Reproduction Science, 95:16-26.

SIMÕES J., Cunha T., Azevedo J., Pereira F., Mascarenhas R., 2007. *Sincronização do estro e taxa de gestação após efeito macho associado a um tratamento progestagénico curto em cabras*. Jornadas de Reprodução - IV Jornadas da AEMVUE / VI Simpósio da SPRA. Évora, 16–18 de Março. Livro de Resumos, pp.76-77.

SIMÕES J., Mascarenhas R., 2004. *Aspectos comparativos da sazonalidade e do ciclo éstrico da cabra*. Série didáctica – Ciências Aplicadas; 256. 1ª edição. Sector Editorial dos SDE da UTAD. Vila Real. 81 pp.

SOLAIMAN S.G., 2010. *Goat Science and Production*. 1<sup>st</sup> Edition. Wiley-Blackwell. Iowa, USA. 425 pp.

STABENFELDT G. H., EDQVIST L. E., 1996. *Processos Reprodutivos da Fêmea*. In: SWENSON, M. J. REECE, W.. 1996. *Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. cap. 36, p. 615-644. Citado por Martins A.C., 2005. *Dinâmica folicular em bovinos*. “Seminário em Reprodução Animal I” do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Reprodução Animal, Curso de Mestrado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Câmpus de Botucatu. 15 pp.

STAPLES L.D., McPhee S., Kennaway D.J., Williams A.H., 1992. *The influence of exogenous melatonin on the seasonal patterns of ovulation and oestrus in sheep*. *Anim Reprod Sci*, v. 30, p.185-223. [Abstract]

SUTHERLAND S.R.D., 1987b. *Progesterone and estrogen requirements for oestrous behavior in goats and sheep*. Proceedings 4<sup>th</sup> AAAP animal Science Congress, Hamilton, New Zealand. Citado por Chemineau P., Delgadillo J.A., 1994. *Neuroendocrinologie de la reproduction chez la caprins*. INRA Prod. Anim., 7:315-326.

SUTHERLAND S.R.D., 1987c. *Progesterone concentration and pulsatile LH secretion during normal oestrus cycles in Angora-cross does*. Proceedings 4<sup>th</sup> AAAP animal Science Congress, Hamilton, New Zealand. Citado por Chemineau P., Delgadillo J.A., 1994. *Neuroendocrinologie de la reproduction chez la caprins*. INRA Prod. Anim., 7:315-326.

TANAKA T., Mori Y., Hoshino K., 1992. *Hypothalamic GnRH pulse generator activity during the estradiol-induced LH surge in ovariectomized goats*. *Neuroendocrinology*, 56:641-645. [Abstract]

TANAKA T., Ozawa T., Hoshino K., Mori Y., 1995. *Changes in the gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity during the estrous cycle in the goat*. *Neuroendocrinology*, 62:553-561. [Abstract]

THORBURN G.D., Scheider W., 1972. *The progesterone concentration in the plasma of the goat during the oestrus cycle and pregnancy*. *J. Endocr.*, 52:23-36. [Astract]

TRALDI A.S., 2000. *Controle farmacológico do ciclo estral e da superovulação em Caprinos e Ovinos*. In: Baruselli P. et al. *Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes*. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, 2000. p. 306-332. Citado por Traldi A.S., Loureiro M.F.P., Capezzuto A., Mazorra A.L., 2007. *Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 31, n. 2, p. 254-260. Belo Horizonte.

TRALDI A.S., Loureiro M.F.P., Capezzuto A., Mazorra A.L., 2007. *Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 31, n. 2, p. 254-260. Belo Horizonte.

UNGERFELD R., 2004. *Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect*. Reproduction Fertility and Development, 16: 479-490. [Abstract]

WALKEN-BROWN S.W., Restall H., Henniawati H., 1993. *The male effect in the Australian cashmere goat: 1. ovarian and behavioural response of seasonally anovulatory does following the introduction of bucks*. Animal Reproduction Science, 32: 41-53. [Abstract]

ZARAGAZA L.A., Gatica M.C., Celi I., Guzmán J.L., Malpaux B., 2011. *Artificial long days and daily contact with bucks induce ovarian but not oestrous activity during the non-breeding season in Mediterranean goat females*. Animal Reproduction Science, in press. doi: 10.1016/j.anirprosci.2011.02.029.